

SÉRIE A, n° 332

N° D'ORDRE

992

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES PHYSIQUES

PAR

M. HENRI POTTEVIN

ANCIEN ÉLÈVE DE L'ÉCOLE NORMALE SUPÉRIEURE

PRÉPARATEUR A L'ÉCOLE DES HAUTES-ÉTUDES

1^{re} THÈSE. — *La Saccharification de l'amidon par la diastase du malt.*

2^e THÈSE. — *Propositions données par la Faculté.*

Soutenues le 16 mai 1899, devant la Commission d'examen.

Président : M. FRIEDEL, *E. Crost*

Examineurs : MM. { DUCLAUX,
PELLAT.

SCEAUX

IMPRIMERIE E. CHARAIRE

98-100, RUE HOUDAN, 98-100

1899

SÉRIE A, N° 332

N° D'ORDRE

992

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES PHYSIQUES

PAR

M. HENRI POTTEVIN

ANCIEN ÉLÈVE DE L'ÉCOLE NORMALE SUPÉRIEURE

PRÉPARATEUR A L'ÉCOLE DES HAUTES-ÉTUDES

1^{re} THÈSE. — *La Saccharification de l'amidon par la diastase du malt.*

2^e THÈSE. — *Propositions données par la Faculté.*

Soutenues le 16 mai 1899, devant la Commission d'examen.

Président : M. FRIEDEL, *Croist*

Examineurs : MM. { DUCLAUX,
PELLAT.



SCEAUX

IMPRIMERIE E. CHARAIRE

98-100, RUE HOUDAN, 98-100

1899

ACADÉMIE DE PARIS

FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

MM.

DOYEN		DARBOUX, professeur. Géométrie supérieure.
PROFESSEUR HONORAIRE	}	HERMITE.
		DE LACAZE-DUTHIERS. Zoologie, Anatomie, Physiologie com- parée.
		TROOST. Chimie.
		FRIEDEL. Chimie organique.
		LIPPMANN. Physique.
		HAUTEFEUILLE. . . . Minéralogie.
		BOUTY. Physique.
		APPELL. Mécanique rationnelle.
		DUCLAUX. Chimie biologique.
		BOUSSINESQ. Calcul des probabilités et Physique mathématique.
PROFESSEURS		PICARD. Analyse supérieure et Algèbre supé- rieure.
		POINCARÉ. Astronomie mathématique et Mécani- que céleste.
		YVES DELAGE. Zoologie, Anatomie, Physiologie com- parée.
		GASTON BONNIER. . . Botanique.
		DASTRE. Physiologie.
		DITTE. Chimie.
		MUNIER-CHALMAS. . . Géologie.
		GIARD. Zoologie, Évolution des êtres organisés.
		WOLF. Astronomie physique.
		KOENIGS. Mécanique physique et expérimentale.
		VÉLAIN. Géographie physique.
		GOURSAT. Calcul différentiel et Calcul intégral.
PROFESSEURS ADJOINTS	}	CHATIN. Zoologie, Anatomie, Physiologie com- parée.
		PELLAT. Physique.
		PUISEUX. Mécanique et Astronomie.
SECRÉTAIRE		FOUSSEREAU.

A LA MÉMOIRE

DE MON CHER ET VÉNÉRÉ MAÎTRE

LOUIS PASTEUR

PREMIÈRE THÈSE

LA SACCHARIFICATION DE L'AMIDON PAR LA DIASTASE
DU MALT

INTRODUCTION

Dubrunfaut a vu le premier, en 1823, que l'amidon se transforme partiellement en sucre sous l'influence de l'extrait de malt; depuis, on a isolé dans un état de pureté relative la substance active du malt, l'amylase, on a précisé la nature du sucre qui prend naissance, le maltose; mais on n'est arrivé à se mettre d'accord ni sur la constitution de l'hydrate de carbone qui accompagne toujours le maltose, la dextrine, ni sur le mécanisme du phénomène par lequel maltose et dextrine dérivent de l'amidon; ce n'est pourtant pas faute d'avoir cherché, car depuis 1823 une année ne s'est pas écoulée sans que la littérature s'enrichisse de plusieurs mémoires ayant trait à l'action de l'amylase, et beaucoup de ces mémoires sont signés de noms considérables dans la science.

La persévérance des efforts tentés pour arriver à une conception de plus en plus précise du mécanisme de la saccharification témoigne que cette question tient une large place dans les préoccupations des savants; il en est ainsi parce qu'elle présente le double intérêt d'un problème scientifique et d'un problème industriel. Chez la presque totalité des végétaux les aliments hydrocarbonés de réserve sont emmagasinés dans les cellules sous forme d'amidon, au moment où il doit être utilisé soit par l'être qui l'a créé, soit par un autre individu; cet amidon est dissous, puis saccharifié sous l'influence d'une amylase agissant exactement comme celle du malt; tant que nous n'aurons pas expliqué comment les choses se passent *in vitro*, il ne faudra pas songer à expliquer comment elles se passent au sein des tissus vivants; d'autre part, la substance amyloacée est la matière première des brasseries et des distilleries de grains;

avant d'être transformée en alcool par la levure, elle doit être saccharifiée par l'amylase; la façon dont cet acte préliminaire s'accomplit a la plus grande influence sur la marche et sur le résultat de la fermentation, et il est bien évident qu'on ne saurait conduire avec sûreté une opération industrielle sans connaître à fond le phénomène qu'elle a pour but de produire et de régler.

Deux théories de la saccharification se sont partagé la faveur des savants : la première en date est de Payen, la seconde est de Musculus.

Pour Payen, une molécule d'amidon se change en une molécule de dextrine sans rien perdre ni rien gagner, par un phénomène d'isomérisie, puis la molécule de dextrine fixant H^2O donne une molécule de maltose. La saccharification se réduit ainsi à deux opérations consécutives et indépendantes : 1^o transformation de l'amidon en dextrine; 2^o transformation de la dextrine en sucre; il n'existe qu'une dextrine et son poids moléculaire est égal à celui du maltose moins H^2O .

Pour O'Sullivan, qui a repris en les complétant les idées de Musculus, la molécule d'amidon est très grosse par rapport à la molécule de maltose, et le phénomène de la saccharification s'explique ainsi : de la molécule d'amidon se détachent un certain nombre de molécules de maltose et ce qui reste de l'édifice primitif constitue une dextrine; de cette molécule de dextrine se détachent successivement des paquets de maltose laissant chaque fois comme résidu une dextrine plus simple, l'effeuillement moléculaire se poursuit ainsi jusqu'à ce que la dernière dextrine formée soit inattaquable par la diatase et se retrouve mélangée au sucre quand l'opération est terminée. Cette théorie admet entre l'amidon et le sucre un grand nombre d'intermédiaires de dextrines, et rattache indissolublement la formation de chacune d'elles à la production d'une quantité déterminée et fixe de maltose.

C'est la théorie de Musculus qui a prévalu, c'est elle qu'on trouve exposée dans les traités classiques.

Pour un certain nombre de savants, les paquets qui se détachent des dextrines successives seraient non pas du maltose, mais des groupements moléculaires destinés à être par la suite intégralement transformés en maltose (malto-dextrine, isomal-

tose), cette conception ne change rien à l'économie générale de la théorie.

Dans une série de *Revue critique* publiées par les *Annales de l'Institut Pasteur*, M. Duclaux a fait, des arguments invoqués pour et contre les théories de Musculus et de Payen, une critique à laquelle je ne puis que renvoyer le lecteur; M. Duclaux conclut que ni l'une ni l'autre de ces théories ne sont capables d'expliquer la totalité des faits acquis par l'expérience et que probablement la vérité est entre les deux, l'explication nouvelle qu'il propose est celle qui semble le mieux en harmonie avec les résultats de mes propres recherches.

I

LES DEXTRINES

Avant d'entrer dans le détail des expériences je crois devoir donner quelques indications sur les méthodes de mesure que j'ai adoptées. Les déterminations quantitatives que j'aurai à effectuer consisteront principalement en mesures de pouvoir rotatoire, en dosages de sucre, en évaluations en poids de substances colloïdales telles que l'amidon soluble et les dextrines.

Les rotations ont été observées au travers d'un tube de 20 centimètres, avec l'appareil de Laurent, à la lumière jaune du sodium; tous les pouvoirs rotatoires seront donc rapportés à la raie D, quand j'aurai à citer des pouvoirs rotatoires rapportés par d'autres auteurs à la teinte sensible, je ferai la correction en me servant de la formule

$$\alpha_D = \alpha_j : 1,111$$

Pour les dosages de sucre à la liqueur de Fehling, j'ai utilisé une liqueur préparée de la façon suivante: on dissout d'une part, dans 160 grammes d'eau distillée, 40 grammes de sulfate de cuivre pur; d'autre part, dans 600 c. c. d'eau distillée 160 grammes de tartrate neutre de potasse et 130 grammes de soude caustique; on mélange les deux solutions, on fait bouillir, on laisse déposer, on siphonne et on étend à 1 litre; c'est, je crois, la formule de Pasteur; ces détails m'ont paru utiles à donner puisque Glendinning (1) a montré que la quantité de sucre nécessaire pour réduire un volume de liqueur de Fehling contenant une quantité déterminée de cuivre variait selon la composition de la liqueur et en particulier selon qu'on avait employé pour l'alcalinisation la

potasse ou la soude ; j'opérais les réductions dans des ballons de verre, dans ces ballons je mettais 10 c. c. de liqueur de Fehling, 20 c. c. d'eau et j'ajoutais peu à peu la solution sucrée dans le liquide bouillant : j'appréciais que la réduction était complète par le changement de la teinte qui passe du bleu au jaune quand tout le cuivre est précipité. Les solutions à titrer étaient toujours amenées par dilution ou concentration à contenir une quantité de sucre équivalente à 10 0/0 de glucose environ, tous les dosages étant faits dans des conditions identiques les résultats sont rigoureusement comparables. La quantité de sucre nécessaire pour réduire 10 c. c. de liqueur de Fehling était déterminée directement en faisant une opération avec une solution contenant en 100 c. c. 4,592 de maltose pur, cristallisé. Je me suis assuré que la présence, dans une solution sucrée, de dextrines à la dose de 10 0/0 était sans influence sur les dosages.

Pour l'évaluation en poids des dextrines et de l'amidon soluble dissous, la méthode qui consisterait à évaporer à sec un volume déterminé de la solution est trop pénible, tous les expérimentateurs qui l'ont essayée y ont renoncé ; j'ai fait comme eux et j'ai eu recours à la méthode des densités, celles-ci ont été prises à 17°,5 avec un aréomètre très sensible construit par M. Baudin et gradué pour les liquides dextrineux que fournit la saccharification.

D'après Meissel (2) les densités des solutions de maltose correspondent aux nombres suivants.

P. — Poids de maltose anhydre présent dans 100 c. c. de la solution.	D. — Densité à 17°,5.	$\frac{D-1000}{P}$
5	1,01953	3,90
10	1,03900	3,90
20	1,07740	3,87

D'après Salomon (3) la densité d'une solution de dextrine à 100/0 est 1,0400 ; elle serait 1,0386 d'après Brown et Heron (4). J'ai fait quelques déterminations avec diverses dextrines que j'ai séparées par des fractionnements à l'alcool du mélange obtenu en traitant l'amidon, comme je l'indiquerai plus loin, dans des conditions où il ne se produit pas de sucre : pour chaque expérience je dissolvais dans l'eau un poids connu de substance préalablement desséchée à 105°.

Les dextrines des solutions A étaient solubles dans l'alcool à 30 0/0, précipitées par l'alcool à 50 0/0
 — B — 50 0/0 — 70 0/0
 — C — 70 0/0

P. Poids de substance sèche
 présente dans 100 c. c. de solution.

	D — 1000		
	P		
	A	B	C
10 grammes.	3,89	3,91	3,90
5 —	3,93	3,94	3,92
1 gramme.	4,00	3,98	4,01

On voit, d'après les nombres qui précèdent, que si on considère des solutions de maltose ou de dextrine dont la teneur en matière dissoute soit voisine de 10 0/0, en divisant l'excès sur 1000 de la densité prise à 17°,5 par le facteur 3,90, on aura avec une approximation suffisante le titre de la solution; le facteur étant le même pour le maltose et pour les dextrines la règle précédente s'applique également au mélange de ces substances.

O' Sullivan (5), puis Brown et Héron (6) ont formulé la loi suivante comme résultat d'un grand nombre d'observations : « Les mélanges fournis par la saccharification de l'amidon ou les portions de ces mélanges que l'on peut isoler par les fractionnements à l'alcool, par dialyse, par fermentation partielle, possèdent toujours un pouvoir rotatoire et un pouvoir réducteur qui correspondent à ceux d'un mélange en proportions convenables de maltose et de dextrine, la dextrine étant dénuée de pouvoir réducteur et ayant un pouvoir rotatoire $\alpha_D = +194,4$. » Je donne ci-dessous, à titre d'exemple pour montrer dans quelle mesure la loi se vérifie, les observations faites avec des portions prélevées à différentes époques dans une masse en voie de saccharification, l'opération avait été mise en train avec une petite quantité d'amylase précipitée dont la présence est sans influence sur les dosages. Pour chaque opération j'ai dosé le sucre avec la liqueur de Fehling, j'ai retranché le poids du sucre du poids de la matière dissoute évaluée d'après la densité, la différence représente le poids de la dextrine, j'ai calculé le pouvoir rotatoire d'un mélange contenant du maltose et de la dextrine dans des proportions correspondant aux poids ainsi déterminés en admettant :

pour le maltose $\alpha_D = 138,5$
 pour la dextrine $\alpha_D = 195,0$

le nombre ainsi obtenu est le pouvoir rotatoire « calculé » ; le pouvoir rotatoire « trouvé » est représenté par 100 fois le quotient que l'on obtient en divisant le nombre qui exprime la rotation observée (rapportée à 1 décimètre de colonne liquide) par celui qui exprime le poids de la matière totale dissoute en 100 c. c.

Matière dissoute en 100 c. c.	Maltose en 100 c. c.	α_D trouvé	α_D calculé.
8,9	1,0	188,9	188,4
9,7	3,5	175,5	174,5
9,2	5,7	159,4	159,9
10,1	8,3	149,3	148,5

La vérification se fait avec une exactitude suffisante et tout se passe comme si l'action de la diastase sur l'amidon donnait naissance uniquement à du maltose et à des dextrines non réductrices.

L'existence des dextrines non réductrices a été longtemps débattue, O'Sullivan (7) l'avait admise sans toutefois arriver à les isoler ; il avait vu seulement qu'en multipliant les fractionnements à l'alcool il obtenait des produits dont le pouvoir réducteur diminuait de plus en plus à mesure qu'augmentait le pouvoir rotatoire, et ces variations inverses correspondaient précisément à celles qu'aurait entraînées l'élimination de petites quantités de maltose. En reprenant les dextrines à peu près pures de O'Sullivan, en oxydant le sucre par le chlorure de cuivre et la soude caustique, comme faisait Bondonneau (7₁), ou par la cyanure de mercure en solution alcaline selon le procédé de Wiley (7₂) on arrive à des substances privées de pouvoir réducteur et dont le pouvoir rotatoire est à peu près celui de la dextrine ; mais ces expériences ne sont pas probantes car les actions oxydantes qui sont capables de détruire les groupements réducteurs de la molécule de sucre pourraient peut-être détruire aussi les groupements réducteurs de la molécule de dextrine, si ceux-ci existaient. Effront (7₃) a apporté un argument meilleur en éliminant le sucre par une fermentation lactique. Dans la suite de ce travail, j'établirai, de façon à ne plus laisser place au doute, que les dextrines ne réduisent pas la liqueur de Fehling et que leur pouvoir rotatoire est égal à celui de l'amidon $\alpha_D = 195^\circ$; je montrerai en outre que les corps réducteurs décrits par divers savants, la maltodextrine, l'iso-

maltose, etc., n'ont pas d'existence réelle; nous pouvons par conséquent accepter dès maintenant les idées de O'Sullivan et admettre que la saccharification de l'amidon par l'amylase du malt produit exclusivement du maltose et des dextrines non réductrices.

La théorie de Musculus prévoit l'existence d'un nombre illimité de dextrines, et en fait on en a décrit beaucoup, malheureusement aucune n'est définie avec précision et on ne saurait trouver chez deux auteurs différents deux descriptions concordantes, susceptibles d'être rapportées à une substance bien déterminée. La réaction de l'iode permet un premier classement des produits de la saccharification, autres que le maltose, en trois groupes :

1° L'amyloextrine, dont les solutions se colorent en bleu par addition d'iode;

2° L'érythroextrine, dont les solutions se colorent en rouge;

3° L'achroextrine, dont les solutions donnent avec l'iode la même teinte que l'eau pure.

Mais ce n'est là qu'une division en gros, les groupes ne sont pas nettement limités et, par exemple, entre le bleu pur de l'amyloextrine et le rouge franc de l'érythroextrine il y a toute la gamme des bleus violacés et des violets-rouges. L'amyloextrine est précipitée de ses solutions aqueuses par l'alcool faiblement concentré, la précipitation de l'érythroextrine exige plus d'alcool, celle de l'achroextrine en exige plus encore : ici nous trouvons non seulement un caractère différentiel, mais encore un procédé de séparation.

De tous les résultats, souvent disparates, apportés par les auteurs qui se sont occupés des dextrines on peut dégager et considérer comme bien acquises les notions suivantes.

Les dextrines ont même composition centésimale que l'amidon; elles possèdent un pouvoir rotatoire droit égal pour toutes et égal à celui de l'amidon; elles sont dénuées de pouvoir réducteur; pour toutes celles qu'on a pu soumettre avec sécurité à l'étude cryoscopique le poids moléculaire est le même, il correspond à la formule $(C^{12}H^{20}O^{10})^{20}$. Traitées par la diastase, les diverses dextrines fournissent, toutes choses égales d'ailleurs, des quantités variables de maltose; ce caractère d'être plus ou moins facilement transformées en sucre est l'élément

différentiel qui sert de base aux classifications établies par O'Sullivan et par Brown et Héron.

Déjà, dans leur mémoire de 1885, Brown et Morriss (9) ont montré que si on prend l'une quelconque des dextrines regardées primitivement par eux-mêmes comme des produits définis, on peut, au moyen des précipitations fractionnées à l'alcool, la séparer en plusieurs portions qui, traitées par la diastase, se comportent de façon différente; ils concluent que tous les produits obtenus par eux ou par leurs devanciers sont des mélanges constitués par l'union en proportions variables de huit dextrines dont ils prévoient théoriquement la formation, mais celles-ci elles-même n'ont plus dès lors qu'un caractère hypothétique puisque en aucun cas elles n'ont été effectivement isolées.

Je vais entreprendre l'étude des dextrines en faisant abstraction de toute conception théorique; pour les séparer j'emploierai les précipitations fractionnées à l'alcool. Afin d'obtenir des résultats toujours comparables, j'ai adopté une technique constante : la solution aqueuse était concentrée au bain-marie, refroidie, additionnée d'alcool de façon que le titre alcoolique du mélange atteigne le chiffre voulu; je laissais déposer, je filtrais, le précipité resté sur le filtre était repris par l'eau, précipité à nouveau par l'alcool à la même concentration; l'opération étant répétée jusqu'à une nouvelle précipitation ne laisse plus de résidu dans les eaux-mères; les liquides alcooliques provenant des précipitations successives étaient réunis, concentrés et soumis après dosage de la matière dissoute aux précipitations ultérieures par l'alcool à dose plus élevée; au début de chaque fractionnement, la concentration du liquide aqueux était poussée jusqu'à un point calculé de façon que la teneur en substance dissoute du liquide aquo-alcoolique au sein duquel se forme le précipité fut voisine de 5 0/0; l'expérience m'a montré, en effet, que pour un même mélange, la proportion de matière qui reste en solution dans l'alcool à un titre donné n'était pas indépendante de la dilution. Les produits de la transformation de l'amidon seront ainsi séparés en plusieurs portions, l'une soluble dans l'alcool à 25 0/0, insoluble dans l'alcool à 30 0/0, l'autre soluble dans l'alcool à 30 0/0, insoluble dans l'alcool à 40 0/0 et ainsi de suite : nous aurons à nous demander quelle est la signification des distinctions ainsi établies.

50 grammes de fécule de pomme de terre, gélatinisés dans 40 litres d'eau, ont été traités à la température de 79-80 par une petite quantité d'amylase (toutes les fois que j'emploierai le terme « amylase », il s'agira d'amylase du malt précipitée par l'alcool), il ne s'est pas formé de sucre en quantité appréciable : les précipitations fractionnées à l'alcool ont donné :

Titre alcoolique du liquide.	Poids de subst. insoluble dans le mélange aquo-alcoolique.
	Ce poids est rapporté à 100 c. c. de subst. totale mise en œuvre.
30	4,2
35	20,6
40	63,5
45	71,3
50	78,1
60	88,1
70	92,7
80	96,2

Les dextrines qui restent dissoutes dans l'alcool à 70 0/0 constituent, après séchage, une poudre blanche se dissolvant facilement et abondamment dans l'eau froide ; l'iode ajouté à leurs solutions y produit à peu près la même teinte que dans l'eau pure, ce sont des achroodextrines.

Les dextrines qui restent en solution dans l'alcool à 25 0/0, mais sont précipitées par l'alcool à 40 0/0, constituent une poudre blanche se dissolvant peu et difficilement dans l'eau froide, plus soluble dans l'eau chaude ; leurs solutions froides sont toujours opalescentes, l'iode ajouté peu à peu produit une coloration d'un bleu pur ; ce sont des amylo-dextrines.

Les dextrines qui sont restées dissoutes dans l'alcool à 55 0/0, mais ont été précipitées par l'alcool à 65 0/0, constituent une substance blanche se dissolvant facilement dans l'eau froide ; les solutions sont limpides et l'iode y produit une coloration rouge ; si l'iode est ajouté peu à peu, la teinte d'abord rouge pelure d'oignon vire au rouge foncé sans donner à aucun moment de nuance bleue ou violette ; ce sont des érythro-dextrines.

Pour certains auteurs, Salomon, Musculus, en particulier, les érythro-dextrines n'auraient pas d'existence propre. Salomon (10) explique la coloration rouge que produit l'iode par ce fait que l'amylo-dextrine qui se colore en bleu lorsqu'elle est en solution aqueuse, se colorerait en rouge lorsqu'elle se trouve en présence d'une certaine quantité d'achroodextrine ; c'est là une hypothèse à l'appui de laquelle son auteur n'apporte aucun fait précis. J'ai essayé d'obtenir un mélange colorable en rouge par

l'union d'amyloextrines et d'achroodextrines, en vain j'ai fait varier les proportions des substances et leur état, en prenant les amyloextrines les plus solubles dans l'alcool, je n'ai jamais obtenu que des mélanges colorables en bleu. Pour Musculus (11), l'amyloextrine se colorerait en bleu lorsqu'elle est en solution concentrée, et en rouge lorsqu'elle est en solution étendue. En lisant avec attention le mémoire de Musculus, on voit qu'il donne arbitrairement le nom d'amidon soluble ou amyloextrine à un mélange complexe représentant le produit à peu près brut d'une saccharification peu avancée et où dominent les érythroextrines. Si on prend l'amyloextrine bien isolée par les précipitations fractionnées à l'alcool, elle donne quelle que soit la dilution exclusivement du bleu, en ajoutant l'iode peu à peu on voit la teinte se foncer et virer au bleu noir, mais sans jamais donner de rouge ni de violet; d'autre part, les érythroextrines délayées dans très peu d'eau donnent un liquide que l'iode colore exclusivement en rouge. Si au lieu de prendre les amyloextrines ou les érythroextrines isolées, on prend les produits de la saccharification *in toto* après leur avoir fait subir le traitement sommaire de Musculus, qui les débarrasse des portions d'amidon non liquéfiées et des corps les plus solubles dans l'eau, on constate que la teinte varie suivant la proportion d'iode ajoutée, avec un peu d'iode elle est bleue, avec un excès d'iode elle vire au violet et au rouge. Sur des liquides contenant plus de 1 p. 100 de matière dissoute, le virage que je viens de signaler est difficile à saisir, il devient très net sur des dilutions à 1 p. 1000, l'expérience est facile à réaliser en faisant avec un même liquide des dilutions, telles que la teneur en substance dissoute aille en décroissant à partir de 1 p. 1000, la même quantité d'iode ajoutée à un même volume de ces dilutions donne une coloration bleue dans les premières, rouge dans les dernières; cette méthode des dilutions est très sensible, elle me fournira un criterium de pureté de l'amyloextrine, celle-ci sera déclarée pure quand elle ne donnera jamais que des teintes bleues. Les variations de teinte que nous venons d'observer tiennent sans doute à l'inégale affinité pour l'iode de la substance colorable en bleu et de la substance colorable en rouge; dans un mélange, c'est l'amyloextrine qui se teint d'abord; la dilution modifie ces affinités au profit de l'érythroextrine, si bien qu'on observe des change-

ments analogues si on dilue, comme le faisait Musculus, le mélange d'iode et de dextrines, la coloration d'abord bleue vire au rouge.

L'érythro-dextrine a donc une existence propre au même titre que l'amylo-dextrine et que l'achroo-dextrine, nous avons là trois substances faciles à isoler et à caractériser; j'ai volontairement laissé de côté les dextrines intermédiaires qui donnent à l'iode des teintes violettes, les teintes varient pour une même dextrine avec la proportion d'iode, ceci éveille tout de suite l'idée d'un mélange et j'ai tenu à m'attacher tout d'abord aux substances que la réaction de l'iode pouvait faire considérer comme pures et homogènes : le sont-elles en effet? Voyons d'abord l'amylo-dextrine.

Dutrochet (12) avait déjà constaté que l'empois d'amidon ne laisse rien diffuser au travers d'une cloison de porcelaine poreuse, il ne laisse à peu près rien passer non plus à la bougie Chamberland; si on essaie de la même façon l'amylo-dextrine obtenue par l'action ménagée de l'amylase, on constate qu'une partie traverse la bougie, tandis que l'autre est retenue; si l'action de l'amylase a été prolongée davantage, l'amylo-dextrine passe intégralement.

1 litre d'empois à 2 0/0 de fécule a été traité à 79-80 par 0,05 d'amylase précipitée : le liquide concentré soumis aux précipitations fractionnées par l'alcool donne :

Alcool 0/0.	Poids de subst. précipitée 0/0.
—	—
30	42,2
40	81,5

La portion soluble dans l'alcool à 30 0/0 mais précipitée par l'alcool à 40 0/0, reprise par l'eau, fournit une solution qui, filtrée sur une bougie Chamberland, donne :

Substance dissoute en 100 c. c. avant la filtration...	2,4
— — — — — après la filtration...	0,85

Le liquide essayé à l'iode par la méthode des dilutions avant et après la filtration donne, dans les deux cas, des teintes d'un bleu pur; l'amylo-dextrine a donc traversé la bougie, mais pas intégralement, les deux tiers environ ont été retenus.

Une deuxième opération a été conduite comme la précédente, mais le traitement par la diastase a été répété quatre fois, les précipitations à l'alcool donnent :

Alcool 0/0.	Substance précipitée p. 100.
30	5,6
40	59,4

La dextrine précipitée par l'alcool à 40 0/0 est reprise par l'eau; la solution filtrée à la bougie donne :

Substance dissoute en 100 c. c. avant la filtration...	2,9
— — — — — après la filtration...	2,5

L'iode, après comme avant filtration, indique la présence d'amylo-dextrine pure : celle-ci est passée tout entière au travers du filtre.

En étudiant la filtration au travers des parois de porcelaine, nous trouvons donc qu'il y a amylo-dextrine et amylo-dextrine : des considérations d'un autre ordre vont affermir et préciser cette notion.

Une transformation faite dans les conditions des expériences précédentes a fourni un liquide qui, par les précipitations fractionnées à l'alcool, donne :

Alcool 0/0.	Substance précipitée p. 100.
20	8,1
30	44,2
35	68,3
40	82,7
50	92,1
60	96,2

Considérons les deux fractions séparées l'une α entre 20 et 30 0/0 d'alcool, l'autre β entre 35 et 40.

La dextrine α , dissoute dans la proportion de 1 0/0, donne une solution fortement opalescente qui devient limpide à chaud mais reprend son opalescence en se refroidissant, qui ne passe que très péniblement au travers de la bougie et en sort privée de la presque totalité de sa substance dissoute, qui par l'iode se colore en bleu intense : si à la solution colorée par l'iode on ajoute une petite quantité d'un sel neutre (1 0/0 de chlorure de sodium par exemple) ou de l'une des nombreuses substances signalées par Payen comme capables de précipiter l'iodure d'amidon, on voit l'iodure bleu se rassembler en quel-

ques heures au fond du vase et se rétracter ensuite à la façon d'un coagulum de caséine ; il laisse au-dessus de lui un liquide limpide, incolore et qui, si la quantité d'iode introduite est suffisante, ne contient plus d'amyloextrine.

L'amyloextrine α se comporte donc comme l'empois non traité par la diastase, il faut seulement une dose de sel un peu plus élevée pour produire la coagulation de l'iodure.

La portion β donne des solutions qui, limpides à chaud, le restent à froid si elles ne sont pas trop concentrées ; ces solutions traversent la bougie sans modification notable, elles se colorent exclusivement en bleu par l'iode. Mais l'addition du chlorure de sodium, même à la dose de 20 0/0, ne détermine la formation d'aucun précipité.

Je n'ai cité que quelques expériences choisies parmi beaucoup d'autres, toutes conduisent aux mêmes conclusions : il n'y a pas qu'une amyloextrine. Parmi les substances colorables en bleu que précipite l'alcool faible, les unes donnent des solutions laiteuses, qui ne traversent pas les parois de porcelaine, qui fournissent un iodure facilement coagulable par les sels neutres et se rapprochent ainsi de l'empois ; les autres donnent des solutions qui filtrent sans altération et fournissent un iodure incoagulable, elles se rapprochent des érythroextrines. Après ce que nous venons d'apprendre, nous sommes portés à penser qu'il n'y a pas plus d'homogénéité dans les groupes de l'érythroextrine et de l'achroodextrine que dans celui de l'amyloextrine ; pour éclaircir ce point, nous allons étudier, au point de vue de leur résistance à l'amylase, les différentes fractions isolées par l'alcool, depuis les amyloextrines jusqu'aux achroodextrines solubles dans l'alcool fort.

L'expérience suivante a été faite avec une dextrine incolore par l'iode isolée des produits fournis par une saccharification déjà avancée, ceux-ci comprenaient :

Maltose	60,2
Dextrine.....	39,8

La plus grande partie du sucre est éliminée par des précipitations dans l'alcool à 95 0/0 et il reste un mélange de :

Maltose	7,3
Dextrine	92,7

Les fractionnements par l'alcool donnent :

La portion A précipitée par l'alcool à 60 0/0 contient 22,4 de dextrine et 0,6 de maltose.

— B sol. dans alc. à 60	Prée. par alc. à 70	— 26,3	— 0,9	—
— C — 70	— 80	— 32,3	— 3,2	—
— D — 80	—	— 9,2	— 2,3	—

Ces diverses fractions sont dissoutes dans l'eau et les solutions sont additionnées de maltose, de façon que chacune d'elles contienne dans 100 c. c. :

Maltose	1,2
Dextrine.....	5,0

Toutes ces solutions sont traitées simultanément et dans les mêmes conditions par la diastase à 63°. Les quantités de maltose formé pour 100 de dextrine mise en œuvre ont été :

Fraction A.....	20,5
— B.....	37,6
— C.....	75,3
— D.....	97,2

La dextrine totale traitée dans les mêmes conditions par la diastase a donné 53,7 0/0 de maltose, au lieu de 52,8 qu'a donné l'ensemble des fractions.

Notre achroodextrine n'était pas homogène, et il est bien clair, en outre, que les divisions que nous avons établies sont arbitraires et qu'il n'y a aucune raison de penser que les parties soient plus homogènes que le tout.

Une saccharification faite à 78° a fourni un mélange contenant :

Maltose	4,5
Dextrine.....	95,5

Ce mélange a été fractionné par l'alcool, et j'ai traité dans les mêmes conditions, par la diastase à 63°, d'une part les diverses fractions redissoutes dans l'eau, d'autre part une partie du mélange primitif. Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau ci-dessous :

La portion précipitée par l'alcool à 35 0/0	représente 5,1 0/0	de la masse totale, elle a donné.....	20,1 0/0	de son poids en maltose.
La port. sol. en alc. à 35 0/0 précipitée par alcool à	40	— 35,3	— 50,5	—
— 40 — 50	— 50	— 29,7	— 61,1	—
— 50 — 60	— 60	— 11,3	— 75,6	—
— 60 — 70	— 70	— 6,8	— 89,5	—
— 70 — 80	— 80	— 3,9	— 98,3	—

La dextrine du mélange primitif a donné 57,8 0/0 de sucre au lieu de 55,4 qu'a donné celle de l'ensemble des fractions.

L'expérience précédente embrasse toute la série des dex- trines, elle montre que la résistance à la diastase n'est pas plus constante dans la région des érythrodextrines que dans celle des

achroo ou des amyloextrines. Des résultats fournis par un grand nombre d'essais, aussi bien que de ceux que j'ai empruntés aux mémoires des divers auteurs qui se sont occupés de la question des dextrines, je n'ai pas su tirer des données suffisantes pour caractériser un petit nombre de substances définies; la seule conclusion qui me paraît se dégager de ce qu'on sait aujourd'hui est que, dans chaque solution amyliacée en voie de saccharification, se trouve une série de corps dont toutes les propriétés connues varient d'une façon graduelle : la chaîne ainsi formée va depuis les amyloextrines très voisines encore de l'état d'empois jusqu'aux achroodextrines solubles dans l'alcool fort, facilement et intégralement transformables en maltose.

A quel ordre de faits physiques ou chimiques convient-il de rattacher les différences relevées entre les dextrines? Les expériences de Brown et Moriss (13) prouvent que, au moins dans les érythroextrines et les achroodextrines, le poids moléculaire reste invariable, les données suivantes sont empruntées au mémoire de ces savants.

On a soumis à l'étude cryoscopique les mélanges de maltose et de dextrine : de l'abaissement du point de congélation, on a retranché celui qui serait capable de produire le maltose s'il était seul présent et on a attribué la différence à l'action de la dextrine.

	COMPOSITION DU MÉLANGE		Poids moléculaire de la dextrine.
	Maltose.	Dextrine.	
A	8,16	91,84	6333
B	6,46	93,54	6332
C	10,50	89,50	5937
D	22,90	77,10	6333

Traitées dans les mêmes conditions par la diastase à 63°, les dextrines de ces mélanges ont fourni des quantités différentes de maltose :

100 de la dextrine A ont donné	0	de maltose.
— B —	52,8	—
— C —	70,0	—
— D —	84,5	—

Ces dextrines étaient les résidus de saccharifications différemment avancés.

A provenait d'une saccharification au cours de laquelle 100 d'amidon avaient donné	80,9	de sucre.
B — — — — —	61,2	—
C — — — — —	41,3	—
D — — — — —	0	—

A B C étaient des achroodextrines; D était un « amidon soluble » qui contenait, par conséquent, des amyloextrines et certainement aussi des érythroextrines.

L'amyloextrine ou plus exactement « l'amidon soluble » semblerait posséder un poids moléculaire beaucoup plus élevé, il serait égal à 4,800 d'après Lintner (13.), à 24,000 d'après Brown et Morriss, mais les savants anglais font observer eux-mêmes qu'ici la cryoscopie perd toute autorité; ils disent en effet : « Bien que différentes expériences aient donné des résultats concordants, d'après lesquels le poids moléculaire de l'amidon serait compris entre 20,000 et 30,000, les erreurs d'expérience sont si importantes relativement à la valeur absolue des nombres observés qu'il est impossible d'accorder quelque confiance aux résultats, quelque soin qu'on ait apporté dans la conduite des expériences. » De mon côté, je me suis proposé de déterminer les points de congélation de solutions d'amyloextrine faites avec les produits isolés par l'alcool. Les amyloextrines les plus solubles dans l'alcool, celles qui passent au travers de la bougie Chamberland et dont l'iodure n'est pas coagulé par NaCl donnent des solutions qui peuvent être congelées à la condition que la concentration ne dépasse pas 2 ou 3 0/0; pour des concentrations plus fortes une partie de la substance dissoute se sépare à 0° et ne se redissout pas quand la masse revient à la température ordinaire; avec des solutions à 2 0/0 l'abaissement du point de congélation est encore trop au-dessous des erreurs d'expérience pour que le poids moléculaire auquel il conduirait puisse être accepté, même comme une indication : les amyloextrines les moins solubles dans l'alcool sont précipitées de leurs solutions, même très étendues, dès qu'on les soumet à la congélation, elles se prêtent moins encore que les autres à des déterminations cryoscopiques. En réalité donc, relativement à la grosseur de la molécule d'amyloextrine, la cryoscopie ne dit rien et je montrerai plus loin que le phénomène qui conduit d'une achroodextrine à l'autre n'est que la continuation de celui qui conduit de l'amidon à l'amyloextrine, de celle-ci à l'érythroextrine et de cette dernière à l'achroodextrine, je ne vois aucune raison d'admettre qu'il se produit des débloublements moléculaires au début, alors que sûrement il ne s'en produit pas à la fin.

Relativement à la coloration par l'iode : les expériences de Payen ont montré que la cellulose, qui à l'état ordinaire ne se colore pas par l'iode, donnait lorsqu'elle avait été gonflée par l'acide sulfurique une coloration bleue identique à celle que donne l'amidon ; entre l'état où elle ne se colore pas et celui où elle se colore en bleu, il en est un où elle se colore en rouge ; si, après l'avoir gonflée par l'acide sulfurique, on la lave et on la laisse revenir par dessiccation à son état de cohésion première, elle devient d'abord colorable en rouge, puis incolorable comme avant le traitement. Grimbert ¹⁴ a observé que les résidus d'amidon laissés par le bacillus orthobutylicus, qui ne donnaient aucune coloration par l'iode, devenaient par un chauffage progressif dans l'eau d'abord colorables en rouge, puis colorables en bleu. Lorsqu'on traite par l'iode le liquide obtenu en broyant des granules d'amidon dans un peu d'eau froide, on a non pas du bleu mais une teinte couleur « Pensée » ; après un chauffage à la température de gélatinisation, le liquide se colore en bleu pur. Ainsi donc les propriétés de ne pas se colorer par l'iode, ou de donner avec ce réactif une teinte déterminée, sont liées à des changements d'état qui ne dépassent pas ceux que peut amener une modification dans le degré de cohésion de la substance.

Nous savons par des expériences de Payen que si les grains d'amidon sont très petits, l'empois qu'ils donnent fournit un iodure difficile à coaguler ; celui-ci, au contraire, se précipite facilement s'il provient d'amidon à grains très gros (on suppose que dans les deux cas le même poids d'amidon a été gélatinisé dans le même volume d'eau). La différence tient évidemment à la façon plus ou moins parfaite dont la substance amylicée se trouve distendue au sein du liquide.

La différence des résistances à la diastase peut aussi être rapportée à des différences d'ordre physique : je montrerai plus loin que les diverses parties d'un même granule qui contiennent la même matière amylicée sous différents états de cohésion donnent, après gélatinisation, des empois qui résistent d'autant plus à l'action de la diastase qu'ils proviennent des portions les plus fortement agrégées : l'expérience suivante met en évidence l'influence qu'exerce sur la marche de la saccharification l'état physique de l'empois.

J'ai préparé 200 c. c. d'empois à 3 0/0 de fécule, je l'ai séparé en deux parties égales A et B. Les 100 c. c. qui constituent la portion A ont reçu 100 c. c. d'alcool absolu; il s'est formé un précipité abondant qui a entraîné la totalité de l'amidon; ce précipité a été séparé, soigneusement broyé dans un mortier avec de l'eau distillée, chauffé au bain-marie pour éliminer l'alcool entraîné au moment de la précipitation, le liquide ainsi obtenu amené à 100 c. c. a été traité à 63° par la diastase dans les mêmes conditions que les 100 c. c. d'empois constituant la portion B. Les quantités de sucre formé rapportées à 100 d'amidon mis en œuvre ont été :

Portion A	46
Portion B	79

Enfin le fait d'être précipitables par l'alcool à une concentration plus ou moins élevée et de traverser plus ou moins facilement les parois de porcelaine n'éveille pas l'idée d'un changement survenu dans la constitution de la molécule chimique.

Si nous mettons toutes les considérations précédentes en regard du fait que pour tous les produits de la saccharification intermédiaires entre l'amidon et le sucre, la composition centésimale et le pouvoir rotatoire sont constants, nous sommes autorisés à conclure que les différences observées ne dépassent pas celles que peut expliquer un changement d'état physique, modifiant les relations des molécules entre elles, mais laissant intact leur édifice.

II

LA DEXTRINISATION

On admet aujourd'hui que le dédoublement moléculaire qui constituerait l'acte même de la saccharification serait précédé par la liquéfaction de l'empois, celle-ci se réduisant à la disparition de l'état muqueux; l'indépendance de la liquéfaction et de la saccharification a été acceptée parce que, manifestement, on peut obtenir la première en dehors de la seconde, et que si on se borne à apprécier le changement d'aspect de l'empois, le phénomène prend une allure très nette : aux températures élevées où la saccharification est pénible, la liquéfaction se produit plus rapidement qu'aux températures basses et elle n'est accompagnée d'aucune formation de sucre; mais si on y regarde de plus près, les choses sont loin de paraître aussi simples. Toutes les parties d'un empois liquéfié ne sont pas dans le même état : les unes sont à peine décoagulées; les autres sont au contraire loin de leur état primitif; entre celles-ci et les érythrodextrines, nous ne savons établir aucune démarcation précise, pas plus, d'ailleurs, qu'entre les érythrodextrines et les achroodextrines : où s'arrête la liquéfaction proprement dite? où commence la dextrinisation? La théorie de Musculus répond : la dextrinisation commence avec la production du sucre; je vais démontrer qu'il n'en est rien, et que l'on peut aller de l'amidon à l'achroodextrine par un phénomène continu indépendant de toute formation de sucre à la fin comme au début.

Les auteurs qui ont visé l'indépendance des phénomènes de liquéfaction et de saccharification s'en sont tenus, pour le premier, à la destruction de l'état muqueux; toutefois il semble bien ressortir de leurs expériences que l'indépendance va plus loin : les nombres suivants, empruntés au mémoire de Brown

et Héron, montrent que le moment où disparaît toute coloration par l'iode (ce que l'on peut considérer comme l'indice d'une dextrinisation assez avancée) correspond à la production de quantités de sucre variables et d'autant plus faibles que la température est plus élevée.

Température de la saccharification.	Pouvoir rotatoire du mélange au moment où l'iode cesse de donner une coloration rouge.
40°	146,7
60°	148,5
66°	169,2
75°	175,5

Il y a lieu de remarquer aussi que, d'après Brown et Héron, le temps au bout duquel on n'a plus que des achroodextrines varie peu avec la température, il n'est pas plus long à 75° qu'à 60°; la production de sucre, au contraire, est bien moins rapide et s'arrête bien plus tôt dans le premier cas que dans le second. Bourquelot (17) a constaté des faits analogues : deux liquides diastasifères contenant primitivement la même quantité de substance active, mais dont l'un a été chauffé pendant 18 heures à 68°, tandis que l'autre était conservé à la température ordinaire, agissant sur l'empois d'amidon dans les mêmes conditions, donnent des quantités inégales de sucre; celui qui a été chauffé en donne environ deux fois moins que l'autre, mais les deux solutions accomplissent dans des temps sensiblement égaux les premières phases du phénomène qui aboutissent à un mélange ne se colorant plus par l'iode. L'indépendance des deux ordres de faits, dextrinisation et saccharification, ressort encore mieux si on les serre de plus près en suivant la marche de la dextrinisation par les précipitations fractionnées à l'alcool. En opérant à la température de 80°, voisine de celle où la diastase cesse d'agir, j'ai pu obtenir une dextrinisation très avancée sans qu'il se forme de sucre; il suffit pour cela de maintenir le liquide diastasifère à 80° pendant un temps convenable avant de l'ajouter à l'empois; lorsqu'on opère la transformation en ajoutant le liquide diastasifère à l'empois aussitôt que l'un et l'autre ont atteint la température de l'expérience, on observe toujours la production d'un peu de sucre, mais celle-ci est limitée aux premiers instants de la réaction, elle est arrêtée que la dextrinisation se poursuit encore.

Les expériences suivantes ont été faites en traitant à 80° un certain volume d'empois de fécule (5 grammes de fécule de pomme de terre dans un litre d'eau) par des affusions successives d'extrait de malt; celui-ci était maintenu au préalable pendant 5 minutes à 80° et ajouté chaque fois dans la proportion de 4 c. c. pour 100 c. c. d'empois, les affusions étaient faites de 10 minutes en 10 minutes; le liquide était ensuite filtré, concentré au bain-marie et soumis aux précipitations fractionnées par l'alcool; dans la solution aqueuse concentrée, j'ai dosé le sucre par la liqueur de Fehling, la quantité trouvée a été rigoureusement égale à celle qu'avait apportée l'extrait de malt.

I. Une seule affusion d'extrait de malt a donné :

Matière totale en solution	18,4
Matière soluble dans l'alcool à 70 0/0	1,0

La substance soluble dans l'alcool à 70 0/0 est de l'achroodextrine.

II. Sept affusions d'extrait de malt ont donné :

Matière totale en solution	17,44
Matière soluble dans l'alcool à 70 0/0	3,00

La substance soluble dans l'alcool à 70 0/0 est de l'achroodextrine.

L'expérience suivante a été faite avec une solution d'amylase précipitée par l'alcool.

0^{gr},4 d'amylase était dissous dans 100 c. c. d'eau et chaque affusion se faisait à raison de 20 c. c. de solution pour 1 litre d'empois : les précipitations à l'alcool ont donné :

Matière totale dissoute	15,8
Matière soluble dans l'alcool à 70 0/0 après 2 affus.	1,3
— — — — — 4 —	2,0
— — — — — 6 —	2,4
— — — — — 8 —	2,5

Le liquide à la fin de l'opération ne contenait pas de sucre.

Il est donc parfaitement établi que la production des dextrines est indépendante de la production de sucre; nous pouvons faire un pas de plus et prouver que la saccharification et la dextrinisation correspondent à deux propriétés distinctes et dissociables de l'amylase; je vais montrer, en effet, que par l'action ménagée de la chaleur on peut, en partant de l'extrait de malt ou de la solution d'amylase, obtenir un liquide qui dextrinise encore, mais qui ne saccharifie plus.

J'ai chauffé à 80° pendant des temps variables chaque fois 50 c. c. d'extrait de malt qui étaient ensuite versés rapidement dans 100 c. c. d'empois à 3 0/0

de fécule froide, la température du mélange tombait au voisinage de 50°; je plaçais celui-ci dans un bain-marie à 60° et je laissais la transformation s'achever.

Dans les tableaux qui suivent, les nombres de la colonne A indiquent la proportion de sucre formé rapportée à 100 de matière dissoute, ceux de la colonne B la quantité de dextrine soluble dans l'alcool à 70 0/0.

Temps de chauffe à 80° en minutes.	A	B
5	80	20
10	53	40
20	21	50
25	12	24
30	2	14
35	0	10
40	0	6
45	Liquéfaction incomplète.	

Après un chauffage de 35 minutes le pouvoir saccharifiant est détruit, tandis que le pouvoir dextrinisant persiste : le temps de chauffe au bout duquel ce dédoublement des propriétés est obtenu varie, du reste, avec la nature de l'extrait de malt employé; un extrait traité dans les conditions de l'expérience précédente a donné :

Temps de chauffe à 80° en minutes.	A	B
5	67	33
10	20	50
15	1	10
20	0	5

dans le cas le pouvoir saccharifiant a disparu dès la quinzième minute; toutes les fois qu'on voudra répéter l'expérience à coup sûr, il faudra faire des essais en série.

Les expériences suivantes ont été faites avec de l'amylase précipitée :

I. La solution d'amylase maintenue pendant le temps voulu à 80° était versée dans un volume égal d'empois à 3 0/0 de fécule froide, le mélange était ensuite maintenu à 60° jusqu'à ce que la transformation fût arrivée à son terme.

Temps de chauffe à 80° en minutes.	A	B
1	63	27
2	25	75
5	4	30
10	0	15
15	Liquéfaction incomplète.	

II. 1,500 c. c. d'empois à 2 0/0 de fécule ont été traités à 60° par huit affusions de 150 c. c. de la solution diastasique qui a servi pour l'expérience précédente, la diastase était préalablement chauffée pendant 10 minutes à 80°, les affusions étaient faites d'heure en heure : le mélange soumis aux précipitations fractionnées à l'alcool a donné :

Alcool 0/0.	Poids 0/0 de substance qui reste en solution.		
	Après 2 affus.	Après 4 affus.	Après 8 affus.
40	»	»	88,1
60	»	»	40,2
70	10,3	15,2	17,8

Il n'y a pas eu production de sucre : après les huit affusions la substance qui reste en solution dans l'alcool à 60 0/0 se colore en rouge par l'iode, celle qui reste en solution dans l'alcool à 70 0/0 est de l'achroodextrine.

Il est aujourd'hui admis que les diverses dextrines ont un pouvoir réducteur nul et un pouvoir rotatoire égal à celui de l'amidon; j'ai déjà dit comment cette notion résultait des recherches de Brown et Héron, de O'Sullivan, de Effront; elle se déduit bien plus simplement et sans contestation possible des expériences suivantes :

Je prépare un empois en précipitant la fécule de pomme de terre (1 à 2 gr. pour 100 c. c. d'eau), dans l'eau portée à 95°, l'amidon se gélifie aussitôt, je le maintiens à 95° pendant 1/2 heure environ, puis je le porte à 120° dans un autoclave pendant 1 heure; l'empois ainsi obtenu est très légèrement opalescent et suffisamment transparent pour être examiné sans peine au polarimètre dans un tube de deux décimètres : traité à 80° par la diastase ou à 60° par la diastase chauffée, cet empois est transformé partiellement en dextrine sans que son pouvoir rotatoire varie.

L'expérience suivante a été faite en traitant à 60° par l'extrait de malt chauffé à 80° un empois transparent à 1 0/0.

Rotation 2 d avant le traitement.....	3° 38'
— — après —	3° 38'

Les précipitations fractionnées à l'alcool ont isolé trois portions.

Portion *a*. Précipitée par l'alcool à 60 0/0, la solution se colore en bleu par un peu d'iode, en violet brun par un excès.

Portion *b*. Reste en solution dans l'alcool à 60 0/0, est précipitée par l'alcool à 70 0/0; les solutions par des quantités croissantes d'iode donnent d'abord un rouge clair, puis un rouge brun foncé.

Portion *c*. Reste en solution dans l'alcool à 70 0/0. L'iode ajouté aux solutions produit à peu près la même teinte que dans l'eau pure.

Il n'y a pas eu production de sucre réducteur.

Les poids respectifs des portions *a*, *b*, *c* ont été :

<i>a</i>	10,6
<i>b</i>	2,7
<i>c</i>	2,9

Les substances ainsi isolées, dissoutes dans l'eau à raison de 3 gr. pour 100 c. c., traitées à 60° par l'extrait de malt frais ont donné en maltose pour 100 de dextrine :

a.....	71
b.....	82
c.....	93

L'expérience précédente prouve de la façon la plus nette que les produits intermédiaires entre l'amidon et le maltose ont un pouvoir rotatoire égal à celui que possède l'amidon dans le granule simplement distendu par l'eau.

Le procédé que je viens d'indiquer pour obtenir des empois transparents et susceptibles d'être examinés au polarimètre dans des conditions de précision suffisante fournit un moyen de comparer entre eux, au point de vue du pouvoir rotatoire, les amidons d'origine différente, c'est une étude que je me propose de faire ultérieurement.

Il aurait été intéressant de rattacher le dédoublement de l'amylase aux phénomènes d'ordre connu qui peuvent se passer au sein du liquide diastasifère chauffé. Lorsqu'on chauffe l'extrait de malt, on voit se former un coagulum qui bientôt se dépose, laissant au-dessus de lui un liquide limpide; la diastase peut être soit coagulée, soit entraînée par collage sur le coagulum : je me suis proposé de suivre comparativement la marche de la coagulation et celle de la destruction de la diastase.

Pour chaque essai, 200 c. c. d'un même extrait de malt ont été maintenus à 80° pendant un temps déterminé, rapidement refroidis, abandonnés à eux-mêmes pour laisser le coagulum se déposer, filtrés; je pesais le coagulum recueilli sur un filtre et séché et je mesurais l'activité saccharifiante du liquide filtré : celle-ci était évaluée d'après la quantité de sucre qui prenait naissance lorsque je faisais agir à 60°, 20 c. c. du liquide sur 100 c. c. d'un empois à 3 0/0 de fécule; les nombres du tableau ci-dessous expriment les activités observées en supposant égale à 100 l'activité de l'extrait de malt avant le chauffage.

Temps de chauffage en min.	Poids du coagulum.	Activité saccharifiante.
5	0,42	90,5
10	0,51	42,3
20	0,51	10,1
30	0,51	0

Nous voyons que la plus grande partie de la substance coagulable est précipitée alors que la diastase est peu attaquée, d'autre

part lorsqu'on chauffe une solution d'amylase celle-ci est détruite sans qu'il se forme de précipité appréciable : il ne semble donc pas que le rôle important dans la destruction de la diastase doive être attribué aux phénomènes de coagulation.

Pour tous les phénomènes de l'ordre de ceux qui nous occupent on doit nécessairement songer aux oxydations auxquelles les ferments solubles sont si sensibles et dont l'importance biologique devient chaque jour plus apparente. Déjà aux températures inférieures à 70° les solutions d'amylase perdent peu à peu leur activité et l'oxygène intervient dans cette altération d'une façon non douteuse.

Un même extrait de malt a été réparti d'une part dans des tubes qui ont été fermés à la lampe vides d'air, d'autre part dans des tubes semblables qu'on a placés à côté des premiers dans un bain-marie réglé à 65° et qui ont été parcourus pendant toute la durée de l'expérience par un courant d'oxygène pur passant bulle à bulle ; on avait ajouté dans chaque tube un dix-millième d'aldéhyde formique pour se mettre à l'abri des microbes. Le pouvoir saccharifiant a été mesuré par la quantité de sucre obtenu en traitant à 60° pendant 1/4 d'heure, 100 c. c. d'empois à 3 0/0 de fécule par 10 c. c. de l'extrait à essayer.

Temps de chauffe en heures.	Série vide.	Série oxygénée.
1	78,2	75,2
5	75,1	36,1
10	56,4	Liquéfact. incomp.
15	30,1	
20	Liquéf. incomp.	
25	Pas de liquéf.	

Aux températures plus élevées les choses se passent de même, seulement la destruction de la diastase est plus rapide ; l'expérience suivante a été faite dans les mêmes conditions que celle qui précède mais avec de l'amylase précipitée et à la température de 78-80.

Temps de chauffe en min.	Série vide.	Série oxygénée.
1	78,2	64,5
2	30,1	49,2
3	12,5	0
10	7,0	0
15	0	0

Aux températures supérieures à 80° la destruction de la diastase est presque instantanée et j'ai toujours vu l'extrait de malt

devenir incapable de liquéfier l'empois après un séjour de quelques secondes à 85°.

En résumé dans les modifications que subit l'amylase aux températures élevées, les phénomènes de coagulation paraissent jouer un rôle secondaire, les phénomènes d'oxydation, au contraire, paraissent jouer un rôle important ; quoi qu'il en soit de l'importance relative de ces deux ordres d'influences il résulte de ce que nous avons appris au cours de ce chapitre :

1° Que la transformation qui conduit de l'amidon à la dextrine et celle qui conduit de la dextrine au sucre sont deux phénomènes distincts :

2° Que chacun de ces deux phénomènes correspond à une propriété spéciale de l'amylase, ce qui revient à dire que celle-ci est un mélange de deux diastases, l'une dextrinisante, l'autre saccharifiante.

III

LA SACCHARIFICATION

Ce que j'ai dit au chapitre précédent prouve que la théorie de la saccharification, telle qu'elle est actuellement admise, ne saurait être conservée, il faut en revenir aux conceptions de Payen qui admettait, bien qu'il ne fût pas arrivé à les isoler en fait, deux phénomènes successifs et indépendants : mais ce point une fois acquis, nous nous trouvons dans la nécessité de chercher une explication nouvelle pour tout un ensemble de faits qui ont servi de fondement à la théorie de Musculus et que n'expliquait pas la théorie de Payen telle que celui-ci l'avait formulée.

Si on suit la marche de la production du sucre aux températures supérieures à 50°, on constate qu'elle se fait en deux temps assez nettement tranchés ; très rapide dans les 10 à 15 premières minutes, elle s'arrête brusquement et ne se continue plus qu'avec une lenteur extrême, les nombres suivants empruntés au mémoire de Brown et Héron montrent comment les choses se passent à 60°.

La saccharification a été conduite à 60° avec 10 c. c. d'extrait de malt. pour 100 c. c. d'empois à 50/0 de fécule. — Les nombres de la colonne T indiquent en minute le temps écoulé depuis le moment où l'empois et l'extrait de malt portés séparément à 60° ont été mélangés, ceux de la colonne R le pouvoir rotatoire du mélange qui constitue à l'époque correspondante le produit de la saccharification ; ceux de la colonne M la proportion de maltose.

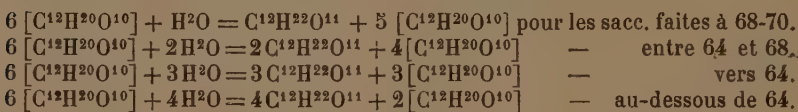
	T	R	M
	1	172,5	39,8
	2 1/2	158,0	65,5
	5	150,1	79,5
	15	149,1	81,4
	30	147,3	84,2
On rajoute 4cc. 5 Extr. malt.	60	146,6	85,6
On rajoute 4cc. 2 Extr. malt.	90	145,1	88,3
	120	144,1	90,1

Si on laisse le phénomène se poursuivre, il aboutit à la transformation totale en maltose.

Le ralentissement du phénomène ne peut-être attribué à l'usure de la substance active puisque l'addition de nouvelles quantités de diastase n'entraîne aucune accélération appréciable, il ne peut pas davantage être rapporté, comme le croyait Payen, à l'influence gênante du sucre formé. La présence du maltose intervient, comme l'a montré Lindet (19), pour retarder la saccharification des dextrines, mais son action est tout à fait insuffisante pour expliquer l'arrêt presque complet que nous avons constaté, d'ailleurs des expériences directes ont montré que l'empois d'amidon ajouté dans un liquide où la saccharification paraît être arrivée à son terme est transformé sinon aussi vite, du moins aussi complètement que l'empois primitif, et que d'autre part l'addition préalable d'une quantité de maltose égale à celle qui doit se former au cours de l'opération, était sans influence notable sur la marche de celle-ci et sur le terme auquel elle s'arrête, pourvu toutefois que les solutions sur lesquelles on opère ne soient pas trop concentrées. Le facteur qui intervient surtout pour arrêter la saccharification est la résistance spéciale que présentent vis-à-vis de la diastase les dextrines résiduelles. Les partisans de la théorie du dédoublement moléculaire ont tiré leurs arguments de ces faits, O' Sullivan a admis :

1° Que les dextrines qui restent non saccharifiées à une température et dans des conditions déterminées étaient inattaquables à cette température et dans ces conditions.

2° Que pour une température déterminée, le rapport entre les quantités de sucre et de dextrine formées au moment où l'opération se ralentit était fixe et simple, et correspondait à celui qu'indique l'une des quatre équations suivantes.



Dès lors tout s'interprétait simplement : la molécule d'amidon était 6 ($C^{12}H^{20}O^{10}$) et les molécules 5 ($C^{12}H^{20}O^{10}$), 4 ($C^{12}H^{20}O^{10}$) etc., représentaient autant de dextrines distinctes, inattaquables à la température où elles prenaient naissance, mais saccharifiables à température plus basse.

M. Duclaux a fait, dans les *Annales de l'institut Pasteur*, la critique des prétendues équations de dédoublement établies par O' Sullivan, par Brown et Héron, par Mærker etc., il a montré, en analysant les résultats d'expérience obtenus par ces divers savants, que pour obtenir des nombres simples, susceptibles d'être traduits par des formules peu compliquées, il faut s'astreindre à maintenir entre de certaines limites la proportion de diastase employée et à interrompre la réaction au bout d'un temps arbitrairement fixé; malgré ces précautions, les résultats varient encore avec le degré d'acidité ou d'alcalinité du milieu et aussi, je vais le démontrer, avec la nature de l'amidon et la façon dont a été préparé l'empois.

En traitant dans des conditions identiques des empois préparés avec des amidons d'origine différente, on constate que les proportions de sucre qui correspondent à l'arrêt de la transformation varient de l'un à l'autre.

Les nombres ci-dessous ont été obtenus avec des empois à 3 0/0 saccharifiés à 63°, les affusions d'extrait de malt étaient faites à raison de 10 c. c. d'extrait pour 100 c. c. d'empois. Le même extrait a servi pour tous les empois, les nombres de la colonne T indiquent le temps en minutes, ceux des autres colonnes expriment la proportion de maltose rapportée à 100 de substance dissoute.

	T.	A. de riz	A. de froment	A. de manioc	A. de pomme de terre	malt.
	5	22,1	37,3	34,2	48,1	56,2
	10	40,3	58,5	52,1	70,3	78,5
Addit. de diast.	30	54,2	71,0	68,7	79,7	87,3
Addit. de diast.	60	60,0	75,1	70,4	80,1	89,4
	120	62,2	77,4	73,3	80,3	91,7

Si nous comparons les deux termes extrêmes, l'amidon de riz et l'amidon de malt, nous voyons que la proportion de sucre obtenue varie dans le rapport de 2 à 3; les équations de dédoublement établies d'après les seuls faits observés sur l'amidon de pomme de terre ne s'appliquent pas aux autres amidons. Il y a plus, pour un même amidon, la marche de la saccharification et la proportion de sucre à laquelle elle s'arrête varient, toutes choses égales d'ailleurs, avec la seule façon dont a été préparé l'empois, selon que la gélatinisation a été faite à une température plus ou moins élevée, et en présence d'une quantité plus ou moins grande d'eau. Les nombres obtenus dans l'expérience précédente avec l'amidon de pomme de terre se

rapportent à un empois préparé dans les conditions ordinaires, c'est-à-dire à une température ne dépassant pas 80°, traitons simultanément un tel empois et celui que l'on obtient en opérant à 95° d'abord, à 120° ensuite, comme je l'ai indiqué au chapitre précédent pour obtenir des empois transparents. L'expérience a été faite à 63° avec des empois à 4 0/0 de fécule.

Durée de la saccharification.	EMPOIS FAIT A 80°		EMPOIS A 120°	
	Réact. à l'Iode	Maltose 0/0	Réact. à l'Iode	Maltose 0/0
30 min.	Incol.	72,3	Rouge foncé	33,1
4 heures	»	72,3	Incol.	80,2

Avec l'empois porté à 120°, la saccharification va moins vite, mais va plus loin, la différence qui est déjà nette dans l'expérience précédente devient encore bien plus marquée si on opère avec l'amidon de riz.

Deux empois à 4 0/0 d'amidon de riz, traités à 63° dans des conditions identiques, ont donné, la transformation étant arrivée à son terme :

	Maltose 0/0.
Empois fait à 85°.....	60,4
Empois chauffé à 120°.....	74,4

L'amidon de riz par le chauffage à 120° est devenu presque aussi facilement attaquant que l'amidon de pomme de terre.

Pour un même amidon, la proportion de sucre obtenue varie avec la quantité d'eau en présence de laquelle un poids déterminé de la substance a été gélatinisé.

J'ai gélatinisé à la température de 80° chaque fois 20 grammes d'amidon de riz dans des volumes d'eau correspondant

à	50 c. c.	pour l'empois	I
à	100	—	II
à	500	—	III
à	1000	—	IV

Les empois étant refroidis, je les ai additionnés d'eau distillée de façon à porter le volume à 1 litre dans tous les cas, et les liquides ainsi obtenus ont été traités à 63° par 20 c. c. du même extrait de malt. L'opération étant arrivée à son terme, les quantités de sucre obtenues rapportées à 100 de matière dissoute ont été :

Liquide I.....	33,5
— II.....	37,1
— III.....	56,2
— IV.....	62,1

De tout ce que nous venons de dire, nous sommes en droit de conclure avec M. Duclaux que « les conditions dans lesquelles il faut se mettre pour obtenir la prétendue simplicité des rapports sont très étroites et très mal définies, et en réalité, le phénomène de la dislocation ou de la dissociation de la molécule d'amidon semble être un phénomène continu, dans lequel c'est un peu artificiellement qu'on provoque ou qu'on suppose des phases. »

Débarrassés de l'appareil des formules, les faits qu'il nous faut interpréter peuvent se résumer ainsi : Dans toute saccharification arrivée au moment où elle se ralentit au point d'être pratiquement arrêtée, il reste des dextrines ; celles-ci, si on les isole et si on les soumet à l'action de la diastase, se montrent plus résistantes que l'empois dont elle dérivent : elles donnent, toutes choses égales d'ailleurs, d'autant moins de sucre qu'elles proviennent d'une saccharification plus avancée.

Rappelons-nous deux notions que nous avons acquises dans les chapitres précédents. Brown et Morriss ont établi et je l'ai vérifié à maintes reprises que si on prend une quelconque des dextrines que l'on peut isoler du mélange fourni par une saccharification, il est possible de la séparer par des fractionnements à l'alcool en plusieurs portions qui, traitées simultanément et dans les mêmes conditions par la diastase, présentent des résistances très différentes ; d'autre part j'ai montré que les dextrines, obtenues par l'action de la dextrinase en dehors de toute production de sucre, présentaient ce même caractère de mélanges et étaient susceptibles d'être scindées en portions de résistances différentes. L'existence de substances plus ou moins facilement attaquables est donc antérieure à la formation du sucre, il y a lieu de se demander si elle n'est pas antérieure même à la formation des dextrines, et si la raison des différences observées ne doit pas être recherchée plus haut dans un défaut d'homogénéité de l'empois dérivant de la non homogénéité certaine du granule d'amidon : c'est ce point que nous allons tenter d'éclaircir.

On sait que lorsque des granules d'amidon non gélatinisés sont soumis à l'action de l'amylase, ils sont partiellement dissous, les uns dès la température ordinaire comme ceux de froment, les autres seulement à température plus élevée comme ceux de

pomme de terre : nous allons étudier un peu en détail comment les choses se passent avec l'amidon de froment.

Pour chacune des deux expériences qui suivent, j'ai délayé 200 grammes d'amidon de froment dans 800 c. c. d'eau distillée et j'ai mis le tout au bain-marie ; quand l'équilibre de température a été atteint, j'ai ajouté 200 c. c. d'extrait de malt préalablement porté à la température du bain :

A intervalles réguliers j'ai puisé 50 c. c. du mélange qu'un agitateur à palettes maintenait constamment homogène ; les 50 c. c. ainsi prélevés étaient aussitôt jetés dans 25 c. c. d'une solution à 3 p. 1000 de potasse maintenue au voisinage de 0° ; la potasse arrêta immédiatement l'action de la diastase, mais elle était en proportion trop faible et à température trop basse pour pouvoir exercer une action nuisible sur les produits dissous ; je filtrais et je dosais la quantité de matière en solution dans la prise d'essai, j'en déduisais celle qui à la même époque était dissoute dans la totalité du liquide mis en expérience. Les nombres du tableau ci-dessous représentent les poids de matière entrée en solution, rapportés à 100 d'amidon sec traité.

Durée de la digestion en minutes.	Digestion à 55°.	Digestion à 60°.
5	26,8	44,8
10	37,1	55,2
20	41,1	61,3
40	43,0	63,2
120	44,1	64,1

La solubilisation des granules d'amidon, très rapide dans les premiers instants, se ralentit bientôt, ce ralentissement peut être rattaché à trois ordres d'influences ;

- 1° Affaiblissement de la diastase ;
- 2° Influence retardatrice des produits déjà dissous ;
- 3° Résistance de plus en plus grande des portions non dissoutes.

1° Ce que nous savons de l'amylase ne rend guère vraisemblable l'hypothèse d'un affaiblissement de ses propriétés dans les 10 premières minutes de son action aux températures de 55° et 60°, et cette cause de retard pourrait être écartée *a priori*, il est d'ailleurs facile de constater directement qu'elle est de nulle importance.

Le liquide provenant d'une digestion faite à 55° pendant 1 heure de 20 grammes d'amidon dans 100 c. c. d'un mélange en parties égales d'eau et d'extrait de malt est filtré, puis partagé en deux portions d'égale volume. L'une, A, est portée à l'ébullition et reçoit ensuite la moitié de son volume d'extrait de malt frais ; l'autre, B, reçoit la moitié de son volume d'extrait de malt bouilli. Les deux portions se trouvent ainsi dans le même

état, avec cette différence que la substance encore activée est en A de la diastase fraîche, en B de la diastase ayant déjà agi pendant 1 heure; dans chacun des liquides A et B je fais digérer pendant 1 heure à 55° de l'amidon de froment à raison de 20 grammes pour 100 c. c. Les quantités de matière entrées en solution, rapportées à 100 grammes d'amidon sec mis en œuvre, ont été :

Portion A.....	44,2
— B.....	44,8

Ainsi donc, le ralentissement de la solubilisation n'est pas imputable à l'usure de la diastase.

2° La présence des produits déjà dissous a sur la marche ultérieure de l'attaque une influence des plus manifestes.

J'ai fait digérer pendant 1 heure à 55° un mélange contenant :

Eau distillée.....	120 c. c.
Extrait de malt.....	80 c. c.
Amidon de froment.....	80 grammes.

Le liquide filtré, porté à l'ébullition, refroidi, ramené au volume initial par addition d'eau distillée contient dans 100 c. c., 16g,2 de substance dissoute provenant de l'amidon, trois flacons ont reçu :

	Eau distillée.	Liquide de la première digestion.	Extrait de malt bouilli.
Flacon <i>a</i>	0	100	0
— <i>b</i>	48	40	12
— <i>c</i>	80	0	20

Dans chaque flacon, j'ai ajouté en outre 20 c. c. d'extrait de malt frais, puis 20 grammes d'amidon de froment, et j'ai fait digérer pendant 1 heure à 55°; les quantités d'amidon dissous ont été :

Flacon <i>a</i> ...	3g,7
— <i>b</i>	5g,3
— <i>c</i>	6g,4

La seule inspection des nombres ci-dessus montre bien que si l'intervention des substances dissoutes gêne la dissolution ultérieure, elle ne suffit pas à expliquer l'arrêt brusque et presque total que nous avons observé, celui-ci doit être rapporté, pour la plus grosse part, à la résistance de plus en plus grande qu'offrent les portions non dissoutes : l'expérience directe prouve qu'il en est bien ainsi.

100 grammes d'amidon de froment contenant 83g,1 de substance sèche ont été traités à 60° par des digestions successives de 1 h. dans un mélange contenant pour 400 c. c. d'eau 100 c. c. d'extrait de malt; après chaque opération la masse était filtrée, le résidu resté sur le filtre était lavé par trois

macérations de 1/4 d'heure dans 500 c. c. d'eau à 55°; les eaux de lavage étaient ajoutées au liquide de la première filtration, le tout était concentré au bain-marie et dans la solution ainsi obtenue je dosais la substance empruntée à l'amidon; le résidu resté sur le filtre, dont la teneur en matière sèche était évaluée par différence, était mis à digérer de nouveau dans un mélange fait de façon que les proportions relatives d'eau de diastase et d'amidon fussent les mêmes que pour la première digestion, et le mélange était traité comme la première fois, les digestions successives étaient faites ainsi toutes de la même façon.

Les nombres du tableau ci-dessous indiquent la quantité de substance dissoute au cours de chaque digestion, ce poids est rapporté à 100 de substance sèche mise en œuvre dans la digestion correspondante :

1 ^{re} digestion.....	60,5
2 ^e digestion.....	37,0
3 ^e digestion.....	20,7
4 ^e digestion.....	10,0

A mesure que la quantité de matière empruntée à l'amidon devient plus considérable, les résidus deviennent de moins en moins faciles à attaquer.

Les granules qui composent l'amidon de froment sont de grosseurs différentes; les uns gros, ovalaires, présentent des stries concentriques presque aussi nettes que celles des grains de fécule; les autres petits, polyédriques, brillants, ont l'aspect de cristaux légèrement arrondis: si on suit sous le microscope la marche de l'attaque par la diastase, on voit les gros grains disparaître, leur partie centrale distendue fait crever les couches externes puis se dissout, et il ne reste en fin de compte que quelques débris informes; les grains polyédriques les plus gros sont moins rapidement et moins profondément attaqués, ils conservent leurs contours nets, à peines corrodés, mais ils sont creusés à leur partie centrale d'un cratère profond à bords déchiquetés; quant aux grains polyédriques les plus petits ils sont encore moins atteints et quelques-uns semblent, même après les dernières digestions, être restés intacts, ils ont conservé leur aspect brillant. Il est manifeste que les divers granules d'un même amidon présentent vis-à-vis de la diastase des résistances très variables et qu'il en est de même pour les différentes parties d'un même granule; ces différences dont la théorie de Musculus ne tient aucun compte, me paraissent présenter une importance capitale et c'est à elles qu'il faudra rapporter toutes les particularités de la saccharification qu'on avait tenté d'expliquer par des dédoublements moléculaires.

Nous allons examiner comment se comportent, après gélatinisation, les résidus que nous avons appris à préparer en poussant plus ou moins loin la dissolution des granules par la diastase.

J'ai traité de la même façon à 60°, après gélatinisation dans des conditions identiques, d'une part de l'amidon de froment, d'autre part les résidus obtenus en dissolvant des proportions plus ou moins considérables de ce même amidon : le résidu A qui a servi aux expériences suivantes représentait 9,5 0/0 de l'amidon primitif.

I. Deux empois à 3 p. 100 d'amidon, faits à 90°, traités simultanément à 60° par la même quantité de diastase, ont donné :

Poids de subst. entrée en solution pour 100 d'amidon gélatinisé.

Amidon entier.....	92,1
Résidu A.....	70,2

II. Deux empois à 3 0/0 ont été faits et saccharifiés dans les conditions de l'expérience précédente. Les nombres du tableau ci-dessous indiquent la proportion de sucre formée, rapportée à 100 de matière dissoute :

Temps en minutes.	Amidon entier.	Résidu A.
5	43,6	15,0
10	67,3	21,2
20	78,0	33,7
40	80,1	42,1
60	80,2	43,0
120	80,9	43,0

L'empois fait avec l'amidon résiduel se saccharifie moins vite et donne en définitive moins de maltose que l'empois fait avec l'amidon entier. L'expérience suivante a été faite avec de l'amidon de pomme de terre.

Le rendu obtenu par des traitements successifs de la fécule par la diastase à 55° représentait 20,2 0/0 de l'amidon primitif : la saccharification faite à 60° des deux empois préparés à 80° a donné :

Maltose p. 100 de matière dissoute.

Amidon entier.....	79,3
Amidon résiduel.....	60,2

Ces expériences prouvent que les portions de l'amidon les plus difficiles à dissoudre donnent, après gélatinisation, les empois les plus difficiles à saccharifier, mais les indications qu'elles fournissent doivent être complétées. Un empois fait

avec de l'amidon de froment, traité par la diastase à 60° donne un liquide qui contient pour 100 grammes de matière dissoute environ 80 grammes de maltose et 20 grammes de dextrine, c'est donc le cinquième de la substance amylacée qui est resté à l'état de dextrine ; en saccharifiant un empois fait avec de l'amidon résiduel qui représentait seulement 9,5 0/0 de l'amidon primitif, nous avons obtenu 43 0/0 de maltose : nous ne pouvons donc pas admettre d'emblée que les dextrines qui restent non transformées dans le cas de l'amidon complet sont précisément celles qui correspondent aux portions les plus résistantes du granule, car autrement le résidu A des expériences précédentes n'aurait pas dû donner de maltose. L'attaque de l'amidon non gélatinisé est irrégulière, comme en témoignent les bords déchiquetés du granule et du cratère central, les couches d'inégale résistance sont certainement un peu entremêlées et il est possible que des portions peu résistantes échappent à l'action de la diastase par suite de leur position, enclavées qu'elles sont dans des couches plus résistantes qui restent indissoutes et qui les protègent.

Toutefois il ne me paraît pas qu'il faille chercher de ce côté l'explication que nous cherchons, nous allons la trouver en regardant du côté de la gélatinisation.

En suivant sous le microscope la gélatinisation des granules d'amidon délayés dans l'eau et chauffés progressivement, on constate que les portions internes se gonflent d'abord ; elles font éclater les couches externes, font hernie, puis disparaissent dans le liquide en sorte que les portions externes, celles qui sont le plus fortement agrégées, se trouvent, au moment où elles se gélatinisent à leur tour, en présence non pas d'eau pure, mais d'un véritable empois ; or, dans ce cas, la gélatinisation est imparfaite et donne un empois difficile à saccharifier.

J'ai préparé deux mélanges constitués de la façon suivante : 1^o mélange A, j'ai ajouté 50 c. c. d'un empois à 30/0 d'amidon de froment à 50 c. c. d'un autre empois contenant 3 0/0 d'un résidu qui représentait 9,8 0/0 du même amidon ; 2^o mélange B, 1,5 d'amidon de froment ont été gélatinisés dans 100 c. c. d'eau ; l'empois étant maintenu à 90°, j'y ai ajouté 1,5 de l'amidon résiduel qui se trouve ainsi gélatinisé non dans l'eau mais dans un empois à 1,5 0/0. J'ai saccharifié dans les mêmes conditions à 60°, les mélanges A et B, un empois à 3 0/0 fait avec l'amidon entier, et un empois à 3 0/0 fait avec l'amidon résiduel. Les quantités de sucre formées, rapportées à 100 de matière totale, ont été :

Pour l'empois fait avec l'amidon entier.....	76,2
Pour l'empois fait avec l'amidon résiduel.....	40,3
Pour le mélange A.....	57,8
Pour le mélange B.....	39,6

Des nombres précédents il ressort que dans le mélange A les deux empois se sont transformés sans exercer d'influence l'un sur l'autre; au contraire, dans le mélange B tout se passe comme si l'amidon résiduel était resté tout entier à l'état de dextrine; d'autres expériences faites dans les mêmes conditions ont donné des résultats identiques et établissent bien que les dextrines les plus difficiles à transformer en maltose, celles qui persistent le plus longtemps dans le liquide en voie de saccharification, proviennent des portions les plus cohérentes de l'amidon.

Comme contre-partie de ce que nous venons de voir, nous devons trouver que les portions les plus facilement solubilisables de l'amidon sont aussi celles qui donnent le plus facilement du sucre.

I. 100 grammes d'amidon de froment ont été traités à 55° par 400 c. c. d'eau additionnés de 100 c. c. d'extrait de malt; au bout de 10 minutes, le mélange a été refroidi, filtré; le liquide filtré contenait dans 100 c. c. 68,4 de matière dissoute; il a été remis au bain-marie à 60° où l'action de la diastase s'est poursuivie sur la matière amylacée entrée en solution; quand l'action a été terminée, j'ai trouvé que la substance empruntée à l'amidon renfermait :

Maltose.....	96,2
Dextrine.....	3,8

L'empois fait avec l'amidon total et contenant environ 6 0/0 de matière solide traité dans les mêmes conditions par la diastase à 55° et à 60° a donné :

Maltose.....	70,2
Dextrine.....	29,8

II. Cette expérience a été faite de la même façon que la précédente; mais, avec de l'amidon de pomme de terre, elle a donné :

Substance dissoute au cours de la première digestion, rapportée à 100 d'amidon sec.....	208,4
Substance dissoute dans 100 c. c. de liquide pendant la saccharification.....	4,6
Maltose p. 100 de substance dissoute, quand la saccharification est finie.....	98,2
Dextrine.....	1,8

Un empois à 4 0/0 de fécule saccharifié dans les mêmes conditions a donné :

Maltose.....	80,1
Dextrine.....	17,9

La conclusion qui se dégage de tout ce que nous avons appris au cours de ce chapitre est que le granule d'amidon qui constitue une masse hétérogène au point de vue physique, reste hétérogène après gélatinisation ; les portions les moins cohérentes donnent un empois qui se dextrinise et se saccharifie vite ; les portions les plus cohérentes donnent un empois qui se dextrinise et se saccharifie lentement, elles fournissent les dextrines résiduelles qui restent non pas inattaquables, mais difficilement attaquables dans toute saccharification arrivée à son terme.

IV

LA MALTODEXTRINE — L'ISOMALTOSE

Jusques ici, nous avons toujours raisonné dans l'hypothèse où l'amidon, sous l'action de l'amylose, donnerait comme uniques produits des dextrines non réductrices et du maltose. Un certain nombre de savants ont admis la formation de corps intermédiaires dont le pouvoir rotatoire et le pouvoir réducteur correspondraient toujours à des mélanges en proportions convenables de maltose et de dextrine; comme dans certaines circonstances ils se comporteraient autrement que les mélanges artificiellement obtenus de ces deux substances, il faudrait leur accorder une individualité propre : tels seraient les dextrines réductrices de Musculus, la maltodextrine de Herzfeld et de Brown et Morriss, l'isomaltose de Lintner etc... Si nous voulons expliquer d'une façon complète le phénomène de la saccharification, il nous faut maintenant étudier ces substances, et examiner dans quelle mesure leur existence, en tant que corps définis, paraît établie ou probable; je bornerai mon examen aux deux d'entre elles qui s'imposent le plus à l'attention par l'autorité des savants qui les ont décrites, la maltodextrine et l'isomaltose; ce que je dirai d'elles pourra d'ailleurs s'appliquer à toutes les autres, les arguments invoqués sont toujours les mêmes, la discussion serait toujours la même aussi.

LA MALTODEXTRINE

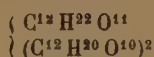
Herzfeld (20) a, le premier, préparé une « maltodextrine »; dans leur mémoire de 1885, Brown et Morriss ont décrit une maltodextrine qui ne ressemble pas tout à fait à celle de Herzfeld

mais qui, à leur sens, n'en diffère pourtant pas d'une façon essentielle car ils disent : « Nous sommes absolument convaincus que Herzfeld a eu entre les mains, quoique à l'état impur, la substance que nous avons nous-même retirée de la portion la plus soluble dans l'alcool des mélanges en voie de saccharification, et que nous considérons comme une combinaison de maltose et de dextrine. » C'est à celle-ci que je rapporterai mon étude.

Les constantes de la maltodextrine seraient :

Pouvoir rotatoire.....	174,2
Pouvoir réducteur (celui de dextrose étant 100).....	20,7
Poids moléculaire.....	1022

La molécule de maltodextrine serait :



Brown et Morriss considèrent la molécule d'amidon comme constituée par la réunion de groupements élémentaires $(\text{C}^{12} \text{H}^{20} \text{O}^{10})^3$, au cours de la saccharification ces groupements se détachent successivement à l'état de maltodextrine, celle-ci est ensuite transformée en trois molécules de maltose, elle ne se trouve en proportion notable qu'au début de la réaction, au moment où il s'en produit plus qu'il ne s'en détruit, après il ne s'en trouve plus.

Les pouvoirs rotatoire et réducteur de la maltodextrine sont exactement ceux qui correspondraient à un mélange de :

Maltose.....	33,9
Dextrine.....	66,1
	100,0

qui aurait en effet :

Pouvoir rotatoire.....	173,8
Pouvoir réducteur.....	21,1

La première pensée est de considérer la maltodextrine comme un mélange, je vais discuter successivement tous les arguments mis en avant pour en faire une combinaison.

La préparation de la maltodextrine est d'après Brown et Morriss une opération délicate, en fait je n'ai pas trouvé dans la littérature scientifique un seul cas où le procédé qu'ils indiquent ait fourni à un autre expérimentateur un produit identique à celui qu'ils ont eux-mêmes obtenu; d'ailleurs les expériences fondamentales par lesquelles ils ont voulu établir l'existence de la maltodextrine ont été faites non pas avec la substance pure, mais avec les produits que l'alcool à 70-80 extrait du mélange fourni par une saccharification arrêtée au début; ils représentaient un mélange de :

Maltose	39,8
Dextrine.....	58,1

Ce mélange dissous dans l'eau dans la proportion de 12,6 0/0 a été mis à fermenter avec un peu de levure (sacch. *Cerivisiae* du type de Burton); au bout de 12 jours, toute fermentation ayant cessé, le résidu non attaqué correspond à :

Maltose	31,6
Dextrine.....	68,4

La levure est encore vivace, car si on ajoute du maltose pur il est rapidement et complètement détruit; après cette deuxième fermentation, le résidu de la première se retrouve avec la même composition 31,6 de maltose pour 68,4 de dextrine; ce résidu soumis aux précipitations fractionnées par l'alcool ne peut être divisé, les portions qui se précipitent et celles qui restent en solution étant de composition identique.

D'un autre côté, Brown et Morriss préparent par la méthode de Bondonno une dextrine à peu près exempte de sucre; avec cette dextrine et du maltose pur ils font un mélange dans les proportions de :

Maltose	42,1
Dextrine.....	57,9

Celui-ci est mis à fermenter dans les mêmes conditions que précédemment, il laisse un résidu de dextrine pure; traité par l'alcool à 85 0/0, il est séparé en deux portions dont les pouvoirs rotatoires sont respectivement :

Portion précipitée	183,2
Portion restée dissoute.....	142,9

Il se comporte donc tout autrement que la maltodextrine et ne peut être confondu avec elle.

En traitant dans les mêmes conditions par l'extrait de Malt à 60° d'une part la maltodextrine, d'autre part la dextrine du mélange artificiel, Brown et Morriss ont obtenu des proportions de maltose différentes, la dextrine de la maltodextrine en a donné 70 0/0, celle du mélange artificiel seulement 44 0/0.

De leurs expériences, Brown et Morriss concluent : La maltodextrine se distingue du mélange maltose-dextrine en ce que :

1° La levure de bière (sacch. *Cerivisiae* des fermentations hautes) est sans action sur la maltodextrine tandis qu'elle détruit sans peine le maltose surajouté et celui d'un mélange en proportions équivalentes fait avec de la dextrine et du maltose pur ;

2° Par les précipitations fractionnées à l'alcool, on sépare le maltose presque complètement de la dextrine, tandis qu'on n'arrive pas à défaire la maltodextrine ;

3° La maltodextrine, traitée par l'extrait de malt à 60°, est intégralement transformée en maltose, ce qui n'a pas lieu pour les dextrines ordinaires qui laissent toujours un résidu non saccharifié (cet argument ne ressort pas nettement de l'expérience citée de Brown et Morriss, puisque la dextrine apparente de leur maltodextrine n'a donné que 70 0/0 de sucre, je prends l'argument tel qu'il est formulé dans leurs conclusions.)

Quand on lit le mémoire de Brown et Morriss, une remarque vient naturellement à l'esprit : la dextrine apparente de leur maltodextrine et celle du mélange artificiel qui leur a servi de terme de comparaison, traitées dans les mêmes conditions par la diastase, ne fournissent pas les mêmes quantités de sucre, elles ne sont donc pas identiques ; n'y aurait-il pas dans les deux cas de simples mélanges dont les façons d'être différentes s'expliqueraient par la différence des dextrines qui entrent dans leur composition ? Je vais montrer qu'il en est bien réellement ainsi.

La méthode de fermentation adoptée par MM. Brown et Morriss, qui consiste à mettre en présence de la solution sucrée

une certaine quantité de levure lavée sans précautions aseptiques, et à laisser à l'étuve pendant 12 jours ce mélange au sein duquel la fermentation est vite arrêtée, m'a paru trop dangereuse; il se fait une macération de levure qui, dans les essais que j'ai tentés d'abord, a toujours été envahie par les microbes, il me semble qu'il doit en être ainsi le plus souvent; aussi ai-je procédé d'une autre façon. J'ai préparé de l'eau de levure en faisant macérer pendant 12 heures, à la température de 70°, 1 kilogramme environ de levure fraîche bien lavée dans 5 litres d'eau, la macération filtrée sur papier était additionnée d'asparagine à la dose de 2 grammes par litre, stérilisée par filtration à la bougie Chamberland et répartie dans des ballons stériles : les mélanges que je voulais faire fermenter étaient stérilisés à l'autoclave, puis ajoutés avec pureté dans les ballons d'eau de levure ainsi préparés, le toutensemencé avec une levure de brasserie (sacch. *Cervisiæ* de fermentation haute) était mis à l'étuve à 22°-23°; grâce aux précautions prises, on peut laisser l'opération aller à son terme sans craindre l'intervention des microbes.

12 litres d'empois de fécule à 50/0 ont été traités à 65° par 1gr,5 de diastase précipitée, l'opération arrêtée au bout de 1/4 d'heure a donné un mélange contenant pour 100 de matière dissoute :

Maltose.....	15,8
Dextrine.....	84,2

Le liquide concentré à consistance de sirop a été additionné d'alcool absolu, de façon à porter le titre alcoolique à 90 0/0 ; le précipité a été repris et épuisé à l'ébullition par l'alcool à 70 0/0 ; en réunissant les liquides d'épuisement et chassant l'alcool, j'ai obtenu un mélange contenant :

A	{ Maltose.....	45,2
	{ Dextrine.....	54,8

Si la maltodextrine existe, il doit s'en trouver dans ce mélange.

J'ai préparé deux séries de cinq ballons d'eau de levure asparaginée et j'ai ajouté pour 100 c. c. d'eau de levure :

Dans les ballons de la série I, 20 c. c. d'une solution à 25 0/0 du mélange A plus 40 c. c. d'eau.

—	—	II, 60	—	—	—	—	—	0	—
---	---	--------	---	---	---	---	---	---	---

Tous ces ballons ont été ensemencés avec une levure haute de brasserie étiquetée au laboratoire de l'Institut Pasteur « Levure de Burgelin » et mis à l'étuve à 22°; l'examen fait à époques successives a donné :

	SÉRIE I		SÉRIE II	
	Maltose.	Dextrine.	Maltose.	Dextrine.
Au début.....	2,26	2,74	6,78	8,22
Après 5 jours.....	1,52	2,74	4,83	8,22
— 10 —.....	1,37	2,74	4,12	8,22
— 3 semaines...	1,36	2,74	4,12	8,22

Le résidu non fermenté correspond dans l'expérience précédente :

Pour la série I.....	{	Maltose.....	33,1
		Dextrine.....	66,9
Pour la série II.....	{	Maltose.....	33,4
		Dextrine.....	66,6

C'est, reproduit aussi exactement qu'on pouvait l'espérer, le résultat de Brown et Morriss, comme dans leurs essais l'addition d'une certaine quantité de maltose pur est sans influence sur la composition du résidu final.

J'ai préparé deux séries de 4 ballons contenant chacun 50 c. c. d'eau de levure asparaginée, 30 c. c. d'une solution à 25 0/0 du mélange A qui a servi pour l'expérience précédente, et en outre dans la série II, 4 grammes de maltose pur; tous les ballons,ensemencés avec la levure de Burgelin, ont été mis à l'étuve à 22° et examinés au bout de temps variables; ils ont donné :

	SÉRIE I		SÉRIE II	
	Maltose.	Dextrine.	Maltose.	Dextrine.
Au début.....	6,78	8,22	10,78	8,22
Après 4 jours.....	5,10	»	8,40	»
— 8 —	4,20	»	4,25	»
— 15 —	4,20	»	4,20	»

Si la fermentation s'arrête, disent Brown et Morriss, c'est que le sucre fermentescible est épuisé. La vie d'un être est quelque chose de très complexe, et c'est s'en faire une idée trop simple que de rapporter ses manifestations aux variations d'un unique facteur; dans le cas présent, les proportions relatives de sucre de dextrine et d'alcool interviennent simultanément pour ralentir l'action de la levure; l'influence prépondérante est celle de la dextrine, et plus exactement de la qualité de la dextrine.

J'ai préparé deux liquides en ajoutant à 50 c. c. d'eau de levure, d'une part (liquide α) 7gr,6 du mélange maltose-dextrine A qui a servi pour les expériences précédentes; d'autre part (liquide β) 3gr,4 de maltose pur et 4 grammes d'une dextrine soluble dans l'alcool à 70° obtenue sans production de sucre, comme je l'ai indiqué précédemment, un troisième liquide γ contient dans 50 c. c. d'eau de levure 3gr,4 de maltose pur et 4gr,5 d'une dextrine précipitée par l'alcool à 60 0/0 d'un sirop fourni par une saccharification arrêtée au début.

J'ai ainsi d'une part le mélange maltose-dextrine dont j'ai déjà étudié les qualités fermentatives, d'autre part deux mélanges artificiels faits dans les mêmes proportions, mais avec des dextrines différentes: traitées par la diastase à 60° dans des conditions identiques, les dextrines de ces divers mélanges ont donné :

Dextrine du mélange α	92,5 0/0 de maltose.
— — — β	94,0 —
— — — γ	47,1 —

Les dextrines α et β sont identiques, elles diffèrent de la dextrine γ qui, de son côté, se rapproche de celle employée par Brown et Morriss.

Les liquides α , β , γ ont été ensemencés avec la levure de Burgelin et mis à l'étuve à 22°. L'examen fait à époques successives a donné :

	MALTOSE DANS 100 c. c.		
	α	β	γ
Au début.....	6,6	6,8	6,8
Après 8 jours.....	4,0	3,8	1,2
— 15 —.....	4,0	3,8	0,8

Les liquides α et β de l'expérience précédente se comportent de la même façon; ils contiennent pourtant, mélangés à des dextrines identiques, l'un le maltose apparent de la maltodextrine, l'autre du maltose pur; le liquide γ , qui contient une dextrine différente, est rapidement privé de la presque totalité de son sucre; la qualité de la dextrine intervient manifestement et nous voyons pourquoi l'expérience comparative faite par Brown et Morriss n'a pas la valeur qu'ils lui ont attribuée. Les dextrines diverses qui se montrent différentes quant à leur résistance à la diastase, quant à leur solubilité dans l'alcool, sont différentes aussi quant à la façon dont elles interviennent pour retarder, puis arrêter l'action de la levure de bière.

Du mélange fourni par une dextrinisation faite sans production de sucre, j'ai séparé quatre portions :

L'une A précipitée par l'alcool à 50 0/0.

L'autre B soluble dans l'alcool à 50 0/0 précipitée par l'alcool à 60 0/0.

— C —	60	—	70
— D —	70		

J'ai préparé des liquides de culture contenant dans 100 c. c. d'eau de levure 6 grammes de ces différentes dextrines et en plus uniformément 5 grammes de maltose pur.

Tous ces liquides ensemencés et mis à fermenter à 22° par la levure de Burgelin ont donné :

	SUCRE RESTANT EN 100 c. c.			
	A	B	C	D
Après 8 jours.....	0,5	0,8	1,3	2,85
— 15 —.....	0,0	0,1	0,5	2,7
— 24 —.....	0,0	0	0,4	2,7

A mesure que les dextrines avancent dans la voie de la décoagulation, leur action retardative vis-à-vis de la levure s'accroît.

Les particularités signalées par Brown et Morriss sont exac-

tement observées, mais l'interprétation qu'ils en donnent n'est pas prouvée; de ce que le maltose apparent de la maltodextrine ne fermente pas, on ne peut pas conclure qu'il est infermentescible, puisque le phénomène se reproduit avec du maltose authentique, uni à une dextrine convenable voisine de celle qui doit entrer dans la maltodextrine.

Brown et Morriss disent : « La maltodextrine ne peut être séparée en maltose et dextrine par un traitement à l'alcool; de quelque façon qu'on s'y prenne, elle se dissout et se précipite en bloc, comme une substance homogène. » Cette affirmation est contredite par Lintner et Düll (21), qui ont soumis les produits de la saccharification, dans lesquels devrait se trouver la maltodextrine, à des fractionnements soigneux et répétés par la dialyse et par les précipitations à l'alcool; dans tous les cas, ils ont pu résoudre le mélange en deux composants dont les pouvoirs rotatoires sont pour l'un (isomaltose) $\alpha_D = 140$, pour l'autre (dextrine) $\alpha_D = 190$; ils affirment n'avoir pas trouvé trace d'une substance se dissolvant et se précipitant en bloc et dont le pouvoir rotatoire serait voisin de 173° , et concluent que la maltodextrine est un mélange de dextrine et d'isomaltose; tout ce que nous retiendrons pour le moment, c'est que malgré le soin qu'ils ont mis à chercher la maltodextrine, ils ne l'ont pas trouvée.

En épuisant par l'alcool à 70 0/0 le mélange fourni par une saccharification arrêtée au début, et faisant fermenter par la levure haute, j'ai préparé un produit correspondant à :

Maltose	31,3
Dextrine	68,7

Une solution sirupeuse de ce mélange a été soumise aux précipitations fractionnées par l'alcool : au sirop chaud j'ai ajouté de l'alcool absolu bouillant jusqu'à ce qu'il se forme un trouble persistant, j'ai laissé refroidir, j'ai filtré et j'ai continué ainsi aussi longtemps que l'addition de quantités nouvelles d'alcool m'a permis d'obtenir un nouveau dépôt; les précipités successifs ont été repris par l'eau, maintenus quelque temps au bain-marie pour chasser l'alcool entraîné puis analysés; ils ont donné :

Titre alcoolique du liquide au sein duquel s'est formé le précipité.	Poids de ma- tière précipitée.	Composition du précipité.	
		Maltose.	Dextrine.
58	5,7	1,2	4,5
70	8,1	2,1	6,0
87	11,7	3,6	8,1
94	2,1	0,9	1,2
Substance restée dissoute dans l'alcool à 94 0/0.	2,4	1,7	0,7

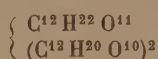
Mon expérience est d'accord avec celles de Lintner et Düll et il est certain que le maltose et la dextrine de la « malto-dextrine » sont séparés par les précipitations fractionnées à l'alcool. Il est facile, et je n'insisterai pas autrement, de préparer des mélanges contenant même proportion de maltose et même proportion de dextrines de différente nature ainsi que je l'ai fait pour l'étude de la fermentation, et de montrer que les traitements par l'alcool séparent du coup et sans peine les mélanges dans la constitution desquels entrent des dextrines peu solubles dans ce véhicule, tandis qu'ils ne séparent que difficilement les autres.

Pour discuter l'argument tiré de ce que la dextrine apparente de la maltodextrine est entièrement transformée en maltose par l'amylase agissant à 60°, je n'ai qu'à me reporter à ce que j'ai dit quand j'ai fait l'étude des dextrines; j'ai montré en particulier que les portions les plus labiles de l'amidon, celles qui, dans une dextrinisation arrêtée à son début, ont déjà atteint l'état de dextrines solubles dans l'alcool fort, sont aussi celles qui, par la suite, seront le plus facilement transformées en maltose; ce sont ces dextrines que Brown et Morriss isolent par leur traitement à l'alcool à 70 0/0 et qu'ils considèrent comme entrant dans la constitution de la maltodextrine; ces dextrines sont transformables en maltose comme toutes les autres, elles le sont plus facilement il est vrai, mais cela est indépendant de l'existence d'une combinaison maltose-dextrine.

Aux arguments que nous venons de discuter et dont nous avons montré le néant, Brown et Morriss en ont ajouté d'autres que je vais discuter à leur tour :

I. — Lorsqu'on soumet à la dialyse une solution de malto-dextrine, la substance dialyse en bloc, ce qui n'a pas lieu pour un mélange, les deux composants passant avec des vitesses différentes.

II. — Les abaissements du point de congélation que l'on observe avec les solutions de maltodextrine étudiées par la méthode de Raoult donnent pour poids moléculaire de la substance dissoute 1022 qui est bien celui qu'exigerait la formule



III. — La maltodextrine traitée par l'acétate de phénylhydrazine ne donne pas d'osazone cristallisable.

I. — Il n'est pas tout à fait exact de dire que la maltodextrine dialyse tout d'une pièce.

J'ai préparé une maltodextrine en procédant comme je l'ai déjà indiqué à plusieurs reprises, j'ai mis dans deux dialyseurs des solutions à 10 0/0, faites l'une (A) avec la maltodextrine, l'autre (B) avec un mélange de maltose pur et de dextrine; celle-ci avait été isolée par l'alcool à 70 0/0 des produits d'une dextrinisation faite sans production de sucre, le mélange était tel que les deux composants s'y trouvaient dans les mêmes proportions que dans le liquide A; j'ai ajouté un peu d'acide phénique pour éviter l'intervention des microbes, l'eau des dialyseurs était changée de six heures en six heures; je mesurais chaque fois les quantités de sucre et de dextrine passées :

	A		B	
	Maltose.	Dextrine.	Maltose.	Dextrine.
Première prise.....	2,5	3,8	2,4	3,2
Seconde —	1,4	2,2	1,2	1,8
Troisième —	0,7	1,6	0,9	1,7

Le mélange A soumis à la dialyse contenait :

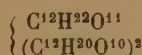
Maltose	32,5
Dextrine.....	67,5

La dialyse marche d'un pas à peu près égal pour la maltodextrine, qui ne passe pas entière, et pour le mélange artificiel; les diverses dextrans dialysent avec des vitesses différentes; celles qui sont le plus solubles dans l'alcool sont celles qui passent le plus vite, elles passent presque aussi vite que le maltose; comme ce sont elles qui entrent dans la maltodextrine, on conçoit très bien que dans certains cas il puisse y exister entre la composition de la substance qui reste sur le dialyseur et celle de la substance qui l'a traversé une différence moins grande encore que celle que j'ai trouvée dans l'expérience précédente.

II. — Raoult a montré que l'abaissement du point de congélation fourni par un mélange de deux substances est égal à la somme des abaisséments que produirait chacune d'elles si elle était seule dissoute dans la proportion où elle existe dans le mélange; Brown et Morriss (23) ont confirmé cette observation et en ont fait dans leur mémoire un usage constant; cela dit, examinons les résultats fournis par l'étude cryoscopique de la maltodextrine.

Une solution contenant 8g,6114 de maltodextrine dans 94g,71 d'eau a donné comme moyenne de trois expériences concordantes un abaissement du point

de congélation de l'eau égal à 0°,180 en admettant pour la maltodextrine la formule :



l'abaissement calculé serait 0,174, c'est-à-dire le même.

Les chiffres de Brown et Morriss sont susceptibles d'une autre interprétation : considérons la maltodextrine comme un mélange, 8°,6114 de cette substance contiendront :

Maltose.....	2,9748
Dextrine.....	5,6366

Le poids moléculaire du maltose est 342, celui de la dextrine est 6480 ; dès lors :

2,9748 de maltose dissous dans 94,71 d'eau produiront un abaisst du pt de congélation de	0,174
5,6366 de dextrine	— — — — — 0,017
Si les deux substances sont dissoutes dans le même liquide l'abaissement sera	 0,191

Les deux nombres fournis par le calcul dans l'hypothèse d'un mélange et dans celle d'une combinaison se placent de part et d'autre du nombre fourni par l'expérience : les différences sont beaucoup trop faibles pour permettre une conclusion dans un sens ou dans l'autre.

III. — J'aurai tout à l'heure en m'occupant de l'isomaltose l'occasion d'examiner l'argument relatif à la non formation d'osazone cristallisée, et je montrerai que dans ce cas encore la prétendue maltodextrine se comporte comme un simple mélange.

En résumé, les arguments invoqués pour faire de la maltodextrine un corps défini ou ne sont pas probants ou reposent sur une interprétation excessive des faits observés ; si l'on fait entrer en ligne de compte les propriétés spéciales aux diverses dextrines, les données expérimentales s'interprètent très simplement sans qu'il soit nécessaire de recourir à une hypothèse nouvelle.

L'ISOMALTOSE

Depuis que les travaux de Fischer (24) ont parut établir que le dextrose traité par l'acide chlorhydrique concentré donnait naissance à des produits de condensation parmi lesquels figure-rait un di-glucose isomère du maltose « l'isomaltose » ; celui-ci a été trouvé un peu partout : Scheibler et Mittelmeier l'ont découvert dans les glucoses industriels ; Lintner et Düll (26) l'ont isolé des produits de la transformation de l'amidon par l'amy-lase. L'opinion de Fischer en ce qui concerne l'identité du di-glucose obtenu par lui a été combattue de divers côtés et lui-même ne la considère pas comme absolument établie, car il dit dans son mémoire de 1895 :

« La preuve formelle que l'isomaltose soit un corps chimi-quement pur manque encore.

« ... Pour asseoir une conclusion ferme sur la nature de l'iso-maltose, il n'y a d'autre moyen que de préparer le produit à l'état pur ; j'ai abandonné cette tâche parce que la préparation d'une quantité de produit brut suffisante pour permettre la purification serait trop pénible et trop coûteuse. » L'opinion de Lintner et Düll qu'une substance définie ayant les propriétés de l'isomaltose existerait parmi les produits de la saccharification de l'amidon par l'amy-lase, soutenue par quelques savants, Schifférer, Hiepe, Prior... a été combattue par d'autres, en tête desquels il convient de citer Brown et Morriss (30).

Les raisons invoquées par Lintner et Düll sont les sui-vantes :

Si on pousse aussi loin que possible les fractionnements par l'alcool du mélange fourni par une saccharification arrêtée au début, la portion soluble dans l'alcool fort possède un pouvoir rotatoire et un pouvoir réducteur qui ne sont pas ceux du mal-tose : le sucre qu'elle contient ne cristallise pas (de même que l'isomaltose de Fischer), il est attaqué par la levure de bière, mais il est détruit bien plus difficilement que le maltose (l'iso-maltose de Fischer serait complètement inattaquable par la levure et penses diastases) ; traité par l'acétate de phénylhydrazine, il fournit une osazone cristallisée identique à l'isomaltosazone de Fischer.

Comme celle de la maltodextrine, la préparation de l'isomaltose est délicate, incertaine, et les propriétés du produit auquel elle conduit varient avec les expérimentateurs. Comme constantes du produit pur, Lintner et Düll indiquent :

Pouvoir rotatoire.....	140,6
Pouvoir réducteur.....	0,84 de celui du maltose.

Brown et Morriss font observer avec raison que ces nombres sont en contradiction avec la règle formulée par O'Sullivan et par eux, ce qui donnerait à penser que la substance appelée « isomaltose » ne contenait pas exclusivement des produits de transformation de l'amidon; les savants anglais ont préparé d'après les indications de Lintner un produit qu'ils considèrent comme correspondant à l'isomaltose; ils lui assignent les constantes suivantes :

Pouvoir rotatoire.....	140,6
Pouvoir réducteur (celui du dextrose étant 100)...	56,03

Lintner et Düll disent que l'isomaltose ne cristallise pas : Ling et Baker ont obtenu, en partant de solutions d'isomaltose préparées selon leur méthode, des cristaux ayant l'aspect des cristaux de maltose. Il est en fait extrêmement difficile d'obtenir du maltose cristallisé en partant des produits fournis par une saccharification commençante, mais on sait bien aussi que l'addition de dextrines ou de substances analogues à des solutions de glucose ou de maltose rend la cristallisation difficile et même pratiquement impossible; on ne se croit pas pour cela en droit de conclure que le sucre qu'elles contiennent a été transformé et est devenu incristallisable.

L'isomaltose est moins facilement attaquable par la levure que le maltose : mais les nombres fournis par Brown et Morriss montrent que : 1° la levure n'attaque pas l'isomaltose en bloc et si on regarde ce qu'est le produit avant et après la fermentation, on voit que tout se passe comme si dans un mélange de maltose et de dextrine une certaine quantité de maltose avait disparu; 2° l'isomaltose ne dialyse pas tout d'une pièce, les portions qui passent les premières sont les plus riches en sucre; 3° la transformation de l'isomaltose en maltose s'accompagne

d'une augmentation de poids qui correspond aussi exactement qu'on peut le désirer à celle qui doit accompagner la saccharification de la dextrine qu'il contient, si on le considère comme un mélange. On le voit, Brown et Morriss ont fait pour l'isomaltose à peu près ce que j'ai fait pour la maltodextrine et il ne reste plus en faveur des idées de Lintner que l'argument tiré de l'identification des osazones.

Les solutions de maltose et d'isomaltose traitées dans les mêmes conditions par l'acétate de phénylhydrazine à chaud laissent précipiter par refroidissement des osazones cristallisées nettement différentes.

La maltosazone cristallisée en belles aiguilles jaunes, isolées ou groupées en faisceaux radiés, ce sont de gros cristaux fondant à 206°; leur composition correspond à la formule $C^{24}H^{32}A_{20}^9$.

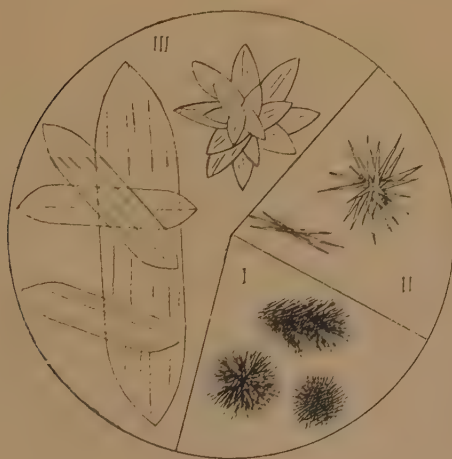
L'isomaltosazone cristallise en toutes petites aiguilles réunies en grumeaux, elle fond aux environs de 150°; sa composition est la même que celle de la maltosazone.

Les différences relevées entre les osazones ne suffiraient pas à prouver l'existence de deux sucres distincts, c'est l'opinion de Fischer, car il dit : « Nous sommes d'accord avec Brown et Morriss pour reconnaître que l'examen des osazones est d'un secours douteux, une faible trace d'impureté suffit pour altérer le caractère d'une asazone; ainsi, si on fait cristalliser de la maltosazone avec la moitié de son poids d'isomaltosazone, elle se trouve modifiée au point d'être méconnaissable. » Il y a plus : dans le mémoire que j'ai déjà cité, Brown et Morris établissent qu'il suffit de faire cristalliser la maltosazone avec des proportions de plus en plus élevées d'impuretés pour lui imprimer les modifications qui la conduisent progressivement à l'état d'isomaltosazone; il m'a semblé pourtant que leur expérience n'était pas topique. L'impureté dont se servent Brown et Morriss est la solution obtenue en traitant par l'acétate de phénylhydrazine les produits séparés par l'alcool fort du mélange fourni par une saccharification arrêtée à son début; si l'isomaltose existait, il y aurait de l'isomaltosazone dans cette « impureté » et il pourrait ne s'être produit dans l'expérience citée rien autre chose que le phénomène signalé par Fischer dans la cristallisation de la maltosazone en présence d'isomaltosa-

zone. J'ai pensé que je contemplerais utilement les recherches de Brown et Morriss et que je présenterais un résultat plus démonstratif si j'obtenais les modifications d'osazone qu'ils ont observées en mélangeant au maltose des dextrines obtenues ainsi que je l'ai indiqué, en dehors de toute formation de produits réducteurs.

J'ai fait des solutions contenant 5 0/0 de maltose pur cristallisé et des proportions variables d'une dextrine non réductrice soluble dans l'alcool à 70 0/0. 50 c. c. de chacune de ces solutions étaient traités à l'ébullition par 5 grammes de chlorhydrate de phenylhydrazine et 7g,5 d'acétate de soude : les mélanges maintenus au bain-marie bouillant pendant deux heures n'ont laissé déposer à chaud aucune substance cristallisée ; par refroidissement elles ont donné des précipités cristallins dont j'indique ci-dessous le poids : les points de fusion et les formes cristallines se rapportent aux osazones purifiées par des cristallisations dans l'eau.

Dextrine présente dans le liquide qui contient 1 de maltose.	Poids d'osazone obtenu.	Quadrant correspondant de la figure.	Point de fusion.
5	Pas de dépôt cristallin.		
2	0g,9	I	154°
0,5	2,0	II	174°
0	2,1	III	206°



Nous voyons que l'addition d'une proportion, même faible, de dextrine conduit à une osazone possédant non plus les caractères de la maltosazone, mais bien ceux de l'isomaltosazone ; d'autres dextrines plus solubles dans l'alcool produiraient probablement le même résultat à doses plus faibles, car pour

l'obtenir avec des dextrines moins solubles dans l'alcool, il faut ajouter celles-ci à doses plus fortes ; l'argument tiré, en faveur de l'isomaltose, de l'observation des osazones est donc caduc ; remarquons en outre que, pour des proportions convenables de maltose et de dextrine, nous n'obtenons pas d'osazone cristallisable, cela nous explique que Brown et Morriss n'en aient pas obtenu avec la maltodextrine.

Toutes les expériences de Brown et Morriss antérieures à celles sur les osazones, concourent à faire considérer l'isomaltose comme un mélange de maltose et dextrine, et pourtant les savants anglais ne poussent pas jusque-là leurs conclusions, ils le considèrent comme un mélange de maltose et de maltodextrine ; cette manière de voir est une conséquence de la façon dont ils ont reproduit l'isomaltosazone avec un mélange qui contient à côté du maltose une substance classée isomaltose par Lintner, maltodextrine par eux-mêmes ; nous pouvons maintenant faire le pas qu'ils n'ont pas fait et conclure que les données expérimentales pour l'explication desquelles on avait eu recours à l'hypothèse de l'isomaltose s'expliquent très bien si on les rapporte aux propriétés d'un mélange de maltose et d'une dextrine convenablement choisie.

Nous pourrions reprendre la discussion précédente à propos de toutes les dextrines réductrices décrites par les divers auteurs : comme pour la maltodextrine et l'isomaltose, elles n'ont qu'une existence conventionnelle et on peut s'en tenir pour l'explication du phénomène de la saccharification à la conception simple de O'Sullivan : il se forme exclusivement du maltose et des dextrines non réductrices.

V

CONCLUSIONS

Les théories anciennes de Payen et de Musculus doivent être abandonnées, car chacune explique un certain nombre de faits, mais elle est contredite par d'autres. Des notions que nous avons acquises au cours de ce travail, ainsi que de celles développées par M. Duclaux dans les revues critiques auxquelles j'ai plusieurs fois renvoyé le lecteur, se dégage une conception nouvelle du mécanisme de la saccharification.

La transformation de l'amidon sous l'action de l'amylase se décompose en deux opérations successives et indépendantes :

1^o Transformation de l'amidon en dextrine ;

2^o Transformation de la dextrine en sucre.

La seconde transformation ne peut se ramener, comme le voulait Payen, à la production d'une molécule de maltose par fixation de H^2O sur une molécule de dextrine ; elle comporte un dédoublement moléculaire exprimé par la formule



le poids moléculaire de la dextrine étant égal à 6480, ainsi que cela résulte des expériences de Brown et Morriss.

Chacun des deux phénomènes est produit par une diastase spéciale : celle qui produit la dextrine pourra être appelée dextrinase, le nom d'amylase étant conservé à l'agent de la saccharification proprement dite.

Les particularités signalées par les différents auteurs et par moi-même dans la marche de la production du sucre s'expliquent en considérant que la granule d'amidon dont on part est une masse physiquement hétérogène ; la gélatinisation atténuée

les différences qui existent entre ses diverses parties, mais ne les fait pas disparaître et l'empois reste l'image de l'amidon dont il dérive : les différentes parties de l'empois se décoagulent de façon à atteindre un état déterminé, puis sont transformées en maltose ; chacune évolue avec une vitesse qui lui est propre et qui dépend : 1° de sa position dans le granule ; 2° des conditions dans lesquelles la gélatinisation a été effectuée. A un moment quelconque on trouve dans le mélange en voie de saccharification des portions dont l'état correspond à tous les degrés de l'échelle des transformations ; quand l'opération se ralentit, on s'arrête, les dextrines qui restent sont celles dont l'évolution est la plus lente et qui mettront le plus de temps à parcourir le chemin qui leur reste encore à faire pour arriver au point où elles seront hydrolysées.

Le maltose et les diverses dextrines non réductrices sont les produits uniques de la transformation de l'amidon et, dans la mesure où le peu d'étendue des recherches effectuées jusqu'à présent permet une conclusion, les divers amidons donnent tous le même sucre et la même dextrine.

BIBLIOGRAPHIE

1. GLENDINNING, *Journ. of. the Chemical Society*. Vol. LXVII, p. 999.
 2. MEISSEL, *Journ. für. praktische Chemie*, 2^e s., t. XXV.
 3. SALOMON, *Annales de Chimie et de Physique*, 6^e s., t. IV, p. 145.
 4. BROWN ET HÉRON, *Journ. of. Ch. Soc.* Vol. XXXV, p. 596.
 5. O'SULLIVAN, *Journ. of. Ch. Soc.* 1876, vol. II, p. 125.
 6. BROWN ET HÉRON, *loc. cit.*
 7. O'SULLIVAN, *loc. cit.*
 - 7₁. BONDONNEAU, *Bulletin de la Société chimique de Paris*. T. XXI, pp. 50 et 149.
 - 7₂. WILEY, *Chemical News*. T. XLVI, p. 175.
 - 7₃. EFFRONT, *Moniteur de Quesneville*. 1887, I, p. 513.
 9. BROWN ET MORRIS, *Journ. of. Ch. Soc.* 1885, vol. XLVII, p. 527.
 10. SALOMON, *loc. cit.*
 11. MUSCULUS, *Bull. Soc. Chim.* 1874, t. II, p. 26.
 12. DUTROCHET, *Annales des Sciences naturelles*. T. XXX, p. 354.
 13. BROWN ET MORISS, *Journ. of. Ch. Soc.* 1889, vol. LV, p. 462.
 - 13¹. LINTNER ET DULL, *Ber. der. Deuts. Chem. Gess. Jahrg.* XXVI, heft. 16.
 14. GRIMBERT, *Annales de l'Institut Pasteur*. 1893.
 17. BOURQUELOT, *Annales de l'Institut Pasteur*. 1887.
 19. LINDET, *C. R. de l'Ac. des Sciences*. Mars 1889.
 20. HERZFELD, *Ber. der. Deuts. Chem. Gess.* T. XII, p. 2120.
 21. LINTNER ET DULL, *loc. cit.*
 24. FISCHER, *Ber. der. D. Ch. Gess.* 1890, p. 3687 et 1895, p. 3024.
 26. LINTNER ET DULL, *loc. cit.*
 30. BROWN ET MORRISS, *Journ. of. Ch. Soc.* 1895, vol. 739.
 31. Je n'ai pas cru utile de donner une bibliographie complète de la saccharification, il en existe plusieurs auxquelles je n'aurais rien à ajouter, on les trouvera.
- Dans le second volume du *Traité de Microbiologie* de M. Duclaux (Paris, Masson, 1899).
- Dans un article très bien documenté d'Effront, *Bulletin de Quesneville*, 1887. (7₃).
- Dans les quatre mémoires de Brown et Héron (4), et de Brown et Morriss (9), (13), (30).

SECONDE THESE

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

POLARISATION ROTATOIRE

Vu et approuvé :

Paris, le 18 mars 1899.

LE DOYEN DE LA FACULTÉ DES SCIENCES,

G. DARBOUX.

Vu et permis d'imprimer :

LE VICE-RECTEUR DE L'ACADÉMIE DE PARIS,

GRÉARD.

